

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

ÉLABORATION D'UN PRODUIT À BASE D'UNE ÉMULSION, DE VITAMINE B₁₂, DE
LACTOSÉRUM, D'EXTRAIT DE LEVURE ET DE PARTICULES RICHES EN MAGNÉTITE
CAPABLE D'ACCÉLÉRER LA DÉHALOGÉNATION DES ÉTHÈNES CHLORÉS.

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE LA TERRE

PAR

MIA PELLETIER

JUILLET, 2013

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord M. Alfred Jaouich, mon directeur de recherche dans ce projet de maîtrise qui a su faire preuve à la fois de fermeté et de patience dans l'aboutissement de ce projet de recherche.

Je remercie M. Philippe Giasson, pour son soutien pédagogique.

Je remercie M. Antoine Bianchi, qui a su transmettre le flambeau et m'épauler dans l'élaboration du projet.

Je remercie M. Alain Zubrycki et Forage Liégeois pour son support financier et technique.

Je remercie M. Pierre Cayer de l'Institut des Sciences de l'environnement pour son support technique dans l'élaboration des méthodes analytiques.

Je remercie Mme Denise Fontaine du département des Sciences de la Terre et de l'Atmosphère pour son support dans le cadre des analyses expérimentales de ce projet.

Enfin, je remercie le centre de recherche en Sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) et le Fond de recherche du Québec en nature et technologie (FQRNT) pour leur soutien financier.

Ce mémoire est dédié à tous ceux qui m'ont supportée... Merci infiniment!

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES TABLEAUX	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES	x
RÉSUMÉ	xi
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I	
REVUE DE LITTÉRATURE	3
1.1 Le PCE et le TCE	3
1.1.1 Source de contamination aux PCE et TCE.....	3
1.1.2 Considération pour la santé des contaminations aux PCE, TCE et sous-produits de dégradations.....	4
1.1.3 Caractéristiques des contaminations aux PCE et TCE	5
1.2 Les techniques de remédiation	7
1.2.1 <i>Ex-situ</i> vs <i>in situ</i>	7
1.2.2 Oxydation vs réduction.....	8
1.2.3 La bioremédiation	9
1.2.4 La bioremédiation <i>in situ</i> par réduction des COVC	10
1.3 Les voies de dégradation réductives des COVC en milieu anaérobiques.....	10
1.3.1 Dégradation biologique	10
1.3.2 Dégradation abiotique.....	11
1.3.3 La déchloration des éthènes et éthanes chlorés en milieu anaérobique	11
1.4 Les réactions chimiques impliquées dans la dégradation des COVC en milieu anaérobique	12
1.4.1 Déhydrohalogénéation (ou déhalogénéation éliminative)	13
1.4.2 Déhalogénéation réductrice.....	13
1.4.2.1 Hydrogénolyse.....	14
1.4.2.2 Dichloroélimination (élimination β).....	14
1.5 La biodégradation des éthènes chlorés.....	15
1.5.1 Déhalogénéation réductive séquentielle	15
1.5.2 Profil de déchloration par réduction séquentielle biologique	17
1.5.3 Biooxydation anaérobique des éthènes chlorés	17

1.6 Les bactéries déhalogénatrices	18
1.6.1 <i>Dehalococcoides Ethenogenes</i>	19
1.7 Le rôle des substrats.....	21
1.7.1 Choix d'un substrat.....	21
1.7.2 Rôle des substrats à libération lente d'hydrogène (slow HRCs).....	22
1.8 Déchloration abiotique des éthylènes chlorés.....	23
1.8.1 Profil de déchloration.....	23
1.8.2 La Magnétite et son rôle dans la déchloration des COVC	24
1.8.3 La vitamine B ₁₂ (Cobalamine)	25
1.9 Les paramètres physico-chimiques	26
1.9.1 Effet du pH sur le taux de dégradation des éthylènes chlorés.....	26
1.9.2 Potentiel Redox et la dégradation des éthylènes chlorés	26
1.9.3 Les nitrates et sulfates.....	27
CHAPITRE II	
HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS	29
2.1 Principe de la remédiation in situ des COVC à l'aide d'une émulsion.....	29
2.2 Les substrats	31
2.2.1 La fraction huile de l'émulsion	31
2.2.2 Le petit lait (lactosérum)	32
2.2.3 Extrait de levure	33
2.3 Les catalyseurs.....	33
2.3.1 Les particules riches en magnétite	33
2.3.2 La vitamine B ₁₂ (cobalamine).....	33
2.4 Le contrôle du pH	34
2.5 Le contrôle des conditions d'oxydoréduction	35
2.6 Les objectifs	36
CHAPITRE III	
MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE.....	37
3.1 Matériel.....	37

3.1.1	Particules riches en magnétite	37
3.1.2	B12.....	39
3.1.3	Extrait de levure	39
3.1.4	Petit lait (lactosérum)	39
3.1.5	Émulsion	40
3.1.6	Eau contaminée en COVC.....	42
3.2	Montage des réacteurs.....	42
3.2.1	Méthode expérimentale.....	42
3.2.2	Description des différentes combinaisons (recettes).....	43
3.3	Méthode analytique	45
3.3.1	P&T-CPG	45
3.3.2	« Head Space »-CPG	46
3.3.3	Mesure de nitrate, sulfate.....	47
3.3.4	pH, mesure redox	47
CHAPITRE IV		
RÉSULTATS.....		48
4.1	Section : Évolution des concentrations en COVC et les sous-produits de dégradation	48
4.1.1	Contrôle.....	49
4.1.2	Recette B (petit lait).....	51
4.1.3	Recette E (émulsion).....	55
4.1.4	Recette F (émulsion + particule DC)	57
4.1.5	Recette G (émulsion + B ₁₂ + extrait de levure + petit lait).....	59
4.1.6	Recette H (émulsion + B ₁₂ + extrait de levure + petit lait + particules DC)	63
4.2	Paramètres physico-chimiques	65
4.2.1	Évolution du pH dans le temps.....	65
4.2.2	Évolution du potentiel d'oxydoréduction dans le temps	66
4.2.3	Évolution des concentrations en nitrates dans le temps	68
4.2.4	Évolution des concentrations en sulfate dans le temps.....	69
DISCUSSION		71
CRITIQUE SUR LA MÉTHODE.....		81

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	82
ANNEXE A	
RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES	84
ANNEXE B	
TABLEAUX DE COMPILATION DES RÉSULTATS	88
ANNEXE C	
MÉTHODE ANALYTIQUE PAR « PURGE AND TRAP » COUPLÉ À UN CROMATOGRAPHE EN PHASE GAZEUSE	92
ANNEXE D	
MÉTHODE ANALYTIQUE : CROMATOGRAPHE EN PHASE GAZEUSE PAR « HEAD SPACE »	106
BIBLIOGRAPHIE	114

LISTE DES FIGURES

1.1	<i>Représentation schématique d'une contamination au LDNA</i>	6
1.2	<i>Voie de dégradation des éthanes et éthènes chlorés en milieu anaérobique</i>	12
1.3	<i>Séquence de déhalogénéation réductive biologique</i>	16
1.4	<i>Déchloration abiotique du PCE par dichloroélimination</i>	23
3.1	<i>Illustration de l'émulsion finale</i>	40
3.2	<i>Illustration de l'émulsion avec incorporation des particules riches en magnétite ...</i>	41
3.3	<i>Vue au binoculaire de l'émulsion avec incorporation de particules riches en magnétite</i>	41
4.1	<i>Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, contrôle.....</i>	49
4.2	<i>Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette B</i>	51
4.3	<i>Graphique de l'évolution des concentrations de COVC en ne considérant que le bioréacteur le plus lent au temps 84 jours, recette B</i>	53
4.4	<i>Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette E</i>	55
4.5	<i>Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette F</i>	57
4.6	<i>Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette G</i>	59
4.7	<i>Graphique de l'évolution des concentrations en COVC en ne considérant que le bioréacteur le plus lent au temps 84 jours, recette G</i>	61
4.8	<i>Graphique des concentrations en COVC en fonction du temps, recette H</i>	63
4.9	<i>Graphique des valeurs de pH compilées en fonction du temps</i>	65
4.10	<i>Graphique des valeurs de Redox compilées en fonction du temps</i>	66
4.11	<i>Graphique des concentrations compilées des nitrates en fonction du temps</i>	68
4.12	<i>Graphique des concentrations compilées des sulfates en fonction du temps</i>	69
A.1	<i>Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette A</i>	85
A.2	<i>Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette C</i>	86
A.3	<i>Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette D</i>	87

LISTE DES TABLEAUX

1.1	<i>Caractéristiques intrinsèques des éthylènes chlorés</i>	5
1.2	<i>Description des différentes souches de Dehalococcoides Ethenogenes</i>	19
1.3	<i>Potentiel redox et mécanismes de biodégradations</i>	27
3.1	<i>Composition minéralogique des particules contenant la magnétite (analyse au DRX)</i>	38
4.1	<i>Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, contrôle</i>	49
4.2	<i>Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette B</i>	51
4.3	<i>Tableau des concentrations de COVC au temps 84 jours pour les 3 bioréacteurs, recette B</i>	53
4.4	<i>Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette E</i>	55
4.5	<i>Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette F</i>	57
4.6	<i>Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette G</i>	59
4.7	<i>Tableau des concentrations en COVC au temps 84 jours pour les 3 bioréacteurs, recette G</i>	61
4.8	<i>Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette H</i>	63
A.1	<i>Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette A</i>	85
A.2	<i>Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette C</i>	86
A.3	<i>Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette D</i>	87
B.1	<i>Tableau de compilation de l'évolution des concentrations de gaz dans le temps ...</i>	89
B.2	<i>Tableau de compilation de l'évolution des concentrations en nitrate dans le temps</i>	90
B.3	<i>Tableau de compilation de l'évolution des concentrations en sulfate dans le temps</i>	90
B.4	<i>Tableau de l'évolution des valeurs de pH dans le temps</i>	91
B.5	<i>Tableau de l'évolution des valeurs d'oxydoréduction dans le temps</i>	91
C.1	<i>Condition du P&T</i>	94
C.2	<i>Condition du CPG</i>	95
C.3	<i>Numéro de CAS et formules chimiques des composés analysés</i>	96
C.4	<i>Concentration des solutions d'étalonnages</i>	97
C.5	<i>Temps de rétentions, des standards internes et détecteur attitré pour chaque composé</i>	97

C.6	<i>Facteurs de réponses moyens et droites de régressions.....</i>	99
C.7	<i>Critère d'acceptabilité pour chaque composé.....</i>	101
C.8	<i>Limite de détection et de quantification pour chaque composé.....</i>	102
C.9	<i>Domaine de linéarité pour chaque composé.....</i>	103
D.1	<i>Conditions du CPG-Head Space.....</i>	107
D.2	<i>Numéro de CAS et formules chimiques des composés gazeux</i>	108
D.3	<i>Concentration des solutions d'étalonnages gazeuses</i>	108
D.4	<i>Détecteur attitré et temps de rétention pour chaque composé gazeux</i>	109
D.5	<i>Droite de régression et facteur de corrélation pour les composés gazeux</i>	109
D.6	<i>Domaine de linéarité de la méthode CPG-Head Space</i>	110
D.7	<i>Enthalpie et constante de Henry des gaz mesurés</i>	113

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

BETEX	Benzène, Éthyl benzène, Toluène, Xylène
CAS	numéro assigné par le Chemical Abstract Service
CEAEQ	Centre d'Expertise en Analyses Environnementales du Québec
cis-DCE	cis-1,2-dichloroéthylène
COC	composé organique chloré
COV	composé organique volatil
COVC	composé organique volatil chloré
CPG	chromatographe en phase gazeuse
CV	chlorure de vinyle
DC	particules riches en magnétite
DCA	dichloroéthane
DNAPL	<i>dense non aqueous phase liquid</i>
DRX	diffractométrie à rayon X
ECD	<i>electron capture detector</i>
EM1	émulsion biodégradable
FID	<i>flame ionisation detector</i>
HAC	hydrocarbure aliphatique chloré
HRC	hydrogen release compound
LDPNA	liquide dense en phase non aqueuse
MDDEP	Ministère du développement durable, de l'environnement, faune et parc
MEB	microscope électronique à balayage
P&T	<i>Purge and Trap</i>
PCE	perchloroéthylène ou tétrachloroéthylène
PCE-RDase	PCE Déhalogénase
RSD	<i>relative standard deviation</i>
TCA	trichloroéthane
TCE	trichloroéthylène
TCE-RDase	TCE Déhalogénase
trans-1,2-DCE	trans-1,2-dichloroéthylène
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>

RÉSUMÉ

L'utilisation répandue du perchloroéthylène (PCE) et du trichloroéthylène (TCE) depuis plusieurs décennies couplée à des normes d'entreposage inadéquates de ces composés, nous a laissé un héritage de problèmes environnementaux importants. Ces composés sont une source de préoccupations autant pour leurs toxicités que pour leur omniprésence.

Les méthodes de remédiation traditionnelles axées sur la décontamination *ex-situ* sont coûteuses et souvent inefficaces pour ce type de contamination. Des techniques plus récentes offrent des avenues mieux adaptées. La remédiation *in situ* est en mesure de nous proposer des solutions concrètes et prometteuses. Ce projet de recherche cadre donc dans cette nouvelle avenue et tentera de faire évoluer ces techniques. On voudra donc créer un produit capable d'être injecté directement dans un aquifère contaminé dans le cadre d'une remédiation *in situ*. La déchloration réductrice semble être la voie de dégradation la plus efficace dans le cas du PCE et du TCE. Pour se faire, on utilisera des donneurs d'électrons et des substrats pour créer un milieu suffisamment réducteur et propice à la croissance de bactéries déhalogénatrices dans le but d'accélérer la dégradation biologique et/ou abiotique des solvants organiques chlorés.

L'expérimentation s'est déroulée sur une période de six mois. L'efficacité de plusieurs intrants et recettes a été testée sur de l'eau souterraine prélevée directement d'un site contaminé aux PCE et TCE. Pour suivre l'évolution de la décontamination, il a été nécessaire de mettre au point des méthodes analytiques faisant appel à la chromatographie en phase gazeuse. Ces méthodes ont permis de mesurer les concentrations des contaminants et de tous les produits de dégradations. Les résultats ont démontré que l'utilisation d'une émulsion couplée à d'autres substrats permet la dégradation complète du PCE jusqu'à l'éthylène/éthane en moins de 168 jours. Cette recette pourrait constituer la base d'une méthode de remédiation *in situ* appliquée à ce type de contamination.

Mots-clés : PCE, TCE, déchloration réductrice, remédiation *in situ*, émulsion, huile végétale, magnétite, vitamine B₁₂, petit lait, extrait de levure, substrat.

INTRODUCTION

Le perchloroéthylène (PCE) et le trichloroéthylène (TCE) sont des contaminants qui sont parmi les plus communs dans l'environnement. Ce sont des solvants organiques chlorés, aussi appelés composés organiques volatils chlorés (COVC), qui ont été utilisés dans plusieurs industries, et ce dès les années 1960. Sur la liste nationale de priorité des sites contaminés du US Environmental Protection Agency (USEPA), au moins 60% de ces sites contiendraient du trichloroéthylène, et 54% de ces sites contiendraient du perchloroéthylène (He et al., 2003). Au Canada, des milliers de sites contaminés seraient le résultat de déversements accidentels, de mauvaises manutentions et des normes d'entreposages déficientes. Le Ministère du développement durable, environnement, faune et parc (MDDEP) estime que 24% des sites contaminés au Québec contiendraient des COVC. Denis et al. (2012) estiment à plus de 22 000 le nombre de sites contaminés aux COVC au Canada.

La nature même de ces contaminants en fait une source de préoccupation puisqu'ils sont à la fois très toxiques et la remédiation est très complexe due à leurs caractéristiques intrinsèques. Les méthodes de décontaminations traditionnelles impliquent des procédés *ex-situ* qui se révèlent le plus souvent peu efficaces. Une nouvelle avenue s'est toutefois développée dans la dernière décennie et offre plusieurs avantages dans le cadre de la décontamination du PCE et du TCE. Il s'agit des techniques *in situ* axées sur la bioremédiation. La bioremédiation implique la stimulation de la croissance des bactéries dites déhalogénatrices par ajout de substrats et par la création d'un milieu propice à leur croissance. On peut aussi accélérer la dégradation par voie abiotique en ajoutant des catalyseurs qui accélèrent les réactions de déhalogénéation des COVC.

Bref, c'est dans une optique de remédiation *in situ*, qu'un produit capable de décontaminer les COVC sera élaboré. Le but étant de créer un produit capable de décontaminer par déchloration réductrice les COVC présents dans un aquifère. Plusieurs intrants seront testés, tels que des substrats soit : une émulsion à base d'huile végétale, de l'extrait de levure et du petit-lait. Des avenues abiotiques seront aussi testées soit : la vitamine B₁₂ qui est un analogue des enzymes responsables de la déhalogénations chez les bactéries, et des métaux réduits qui agissent en tant que catalyseurs dans la réaction de déchloration réductrice. Le petit-lait appartient aussi à

cette catégorie puisqu'il contient de l'acide lactique qui est capable de déchlorer directement les COVC. Ces aspects seront abordés dans la section *Revue de littérature* (Chapitre I) et plus en profondeur dans la section *Hypothèse et objectifs* (Chapitre II)

Le mémoire est composé de quatre chapitres :

1. Revue de littérature; où les connaissances actuelles seront exposées et la mise en contexte de la recherche sera présentée.
2. Hypothèses et objectifs; où les effets théoriques des différents intrants et l'explication des choix de recette seront exposés. Cette section abordera aussi les résultats attendus.
3. Méthodologie expérimentale; où les différentes recettes testées seront décrites ainsi que les méthodes analytiques utilisées et mises au point.
4. La présentation des résultats, la discussion, les critiques sur la méthode expérimentale et la conclusion seront exposés.

1 REVUE DE LITTÉRATURE

1.1 Le PCE et le TCE

Le perchloroéthylène(PCE) et le trichloroéthylène(TCE) sont tous deux des composés aliphatiques chlorés de la famille chimique des éthylènes. Ce sont des composés organiques volatils chlorés (COVC) qui sont considérés par le United States Environmental Protection Agency (USEPA) comme des produits très toxiques et cancérogènes.

1.1.1 Source de contamination aux PCE et TCE

Le TCE et le PCE se trouvent parmi les contaminants les plus répandus dans l'environnement. Ces solvants organiques chlorés ont été abondamment utilisés dans les pays industrialisés dès le début du 20^e siècle (Abelson, 1990; Wetsrick, 1984). Ce sont des normes d'entreposage déficientes et l'utilisation très répandue de ces solvants chlorés qui seraient à l'origine de la présence importante et omniprésente des COVC dans l'environnement (ATSDR, 1997a; ASTDR 1997b). Ces produits sont toujours utilisés aujourd'hui, bien que dans une moindre mesure, dans l'industrie du nettoyage à sec, dans l'industrie du textile, dans l'industrie chimique (en tant qu'intermédiaires chimiques) et comme dégraissant pour les métaux dans plusieurs milieux industriels tels que la métallurgie et le milieu de l'aéronautique. Le PCE et TCE ont été détectés aussi bien dans l'eau souterraine, dans l'eau de surface, dans l'air, dans les aliments que dans le lait maternel (USEPA, 2012b). Le PCE se trouve généralement à des concentrations de moins de 1 ppb dans l'air et cette concentration s'élève rarement au-dessus de 1 ppm dans l'air entourant les commerces de nettoyage à sec et les sites d'entreposages. Cependant, en l'an 2000, Environnement Canada effectue une évaluation nationale des approvisionnements en eau potable et détermine que sur les 1,67 million de Canadiens et Canadiennes sondés, 49 % s'approvisionnaient à des sources présentant des concentrations non détectables (<0.01-10 µg/L) de COVC, 48.1 % à des sources ayant une concentration maximale de 1-10 µg/L, 2.1 % à des sources présentant une concentration maximale de 10-100 µg/L, et 0.8 %

à des sources ayant une concentration maximale de $>100 \mu\text{g/L}$ (Santé Canada^{1,2,3}). Santé Canada fixe les limites dans l'eau potable à $5 \mu\text{g/L}$ pour le TCE et à récemment abaissé la limite du PCE de $5 \mu\text{g/L}$ à $2 \mu\text{g/L}$. Le dichloroéthylène (DCE) et le chlorure de vinyle (CV) qui sont des sous-produits de dégradation du PCE et du TCE sont aussi contrôlés par Santé Canada. La limite dans l'eau potable est fixée à $14 \mu\text{g/L}$ pour le DCE et à $2 \mu\text{g/L}$ pour le CV. Des concentrations en traces sont donc suffisantes pour rendre l'eau impropre à la consommation.

Depuis 1999, l'utilisation du PCE et du TCE dans les secteurs du nettoyage à sec et du dégraissage des métaux est régie par deux règlements fédéraux de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (Canada^{1,2}). Ces règlements visent à diminuer significativement les quantités de PCE et TCE dispersées dans l'environnement. Cependant, il y a toujours plus de 22 000 sites contaminés aux éthènes chlorés au Canada (Denis et al., 2012).

1.1.2 Considération pour la santé des contaminations aux PCE, TCE et sous-produits de dégradations

L'USEPA considère qu'une exposition prolongée aux COVC aurait des effets dommageables sur les reins, le foie, les systèmes sanguin, immunitaire, nerveux et le système reproducteur mâle. Ils sont aussi considérés comme des substances tératogènes. Les effets cancérogènes sont très bien démontrés sur les animaux, mais les données sur les humains sont toutefois insuffisantes pour confirmer le pouvoir cancérogène, ils sont donc toujours considérés comme potentiellement cancérogène bien que le USEPA relie l'exposition au TCE à une augmentation de l'occurrence de lymphome non Hodgkinien, de cancer du foie, des reins, de la vessie, du pancréas et des voies biliaires (USEPA, 2012a). Le USEPA a aussi récemment classé le PCE comme une substance cancérogène probable (USEPA, 2012b) avec des risques pour la santé similaire à ceux du TCE.

1.1.3 Caractéristiques des contaminations aux PCE et TCE

Les propriétés intrinsèques du PCE et TCE en font des contaminants qui créent des problématiques complexes. Le PCE et le TCE sont des liquides denses non aqueux (LDNA), c'est-à-dire que leurs solubilités dans l'eau sont très faibles et que leurs densités sont de beaucoup supérieures à celle de l'eau.

Tableau 1.1 : Caractéristiques intrinsèques des éthylènes chlorés

Composé	Constante de Henry (atm·m ³ /mol)	Densité (g/cm ³) à 20 °C	Solubilité dans l'eau (mg/L) à 20 °C	Point d'ébullition (à 760mm Hg)	Point de fusion (à 760 mm Hg)
Perchloroéthylène (PCE)	0.00937	1.6227	150	121	-19
Trichloroéthylène (TCE)	0.0174	1.4642	1100	87	-73
Dichloroéthylène (DCE)					
Cis (1,2-DCE)	0.000374	1.2837	3500	60.3	-80.5
Trans (1,2-DCE)	0.000916	1.2565	6300	47.5	-50
Iso (1,1-DCE)	0.00261	1.218	2250	37	-122.1
Chlorure de Vinyle (VC)	0.0270	0.8978	1100	12.27	-136.4

Adapté de AFCEE, 2007.

Les points d'ébullition du tableau 1.1 (*Caractéristiques intrinsèques des éthylènes chlorés*) nous indiquent que la totalité des composés présentés sont liquide aux températures ambiantes sauf le chlorure de vinyle et l'iso-DCE qui sont gazeux à des températures supérieures à 12 et 37 °C respectivement.

La colonne des densités nous indique que tous les composés sont plus denses que l'eau à l'exception du chlorure de vinyle. La constante de Henry est une mesure du coefficient de partition air-eau. Il s'agit du ratio entre la pression partielle du gaz sur sa concentration dans l'eau à une température donnée. Un composé très volatil aura une constante de Henry se rapprochant de 1. Un composé qui possède une constante inférieure à 5×10^{-5} atm-m³/mol est considéré soluble et aura tendance à demeurer en solution. Donc tous les COVC présentés ici sont relativement insolubles. Le tableau 1.1 nous indique aussi que le PCE et le TCE sont faiblement solubles à insolubles dans l'eau.

La densité élevée et la faible solubilité du PCE et TCE impliquent une migration verticale dans l'aquifère. Lorsque les liquides denses en phase non aqueuse (LDNA) migrent verticalement et rencontrent une lentille plus imperméable, le liquide est forcé de se répandre de façon latérale et s'accumule en une masse dense, il se forme alors une phase libre. Le liquide dense en phase non aqueuse (LDPNA) est caractérisé par une masse continue de COVC entre les pores du sol. L'eau souterraine qui traverse la source de contamination forme une contamination en amont du LDPNA par dissolution et advection de la phase concentrée. La figure 1.1 (*Représentation schématique d'une contamination au LDPNA*) illustre cette phase libre ou LDNA.

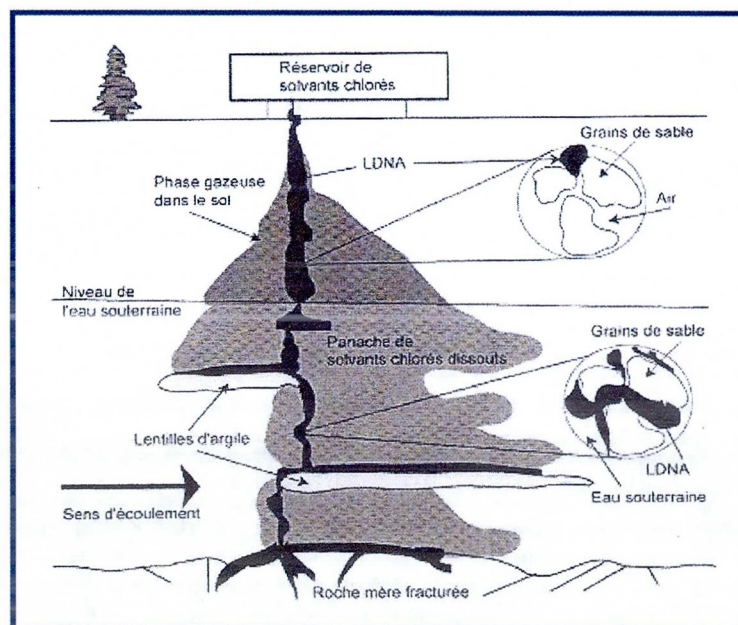


Figure 1.1 : Représentation schématique d'une contamination au LDPNA

Tiré de Sbaratto, 2005.

Les réactions de déhalogénéation forment des produits qui tendent à être moins hydrophobes, plus volatils et plus solubles que les molécules parentes par plusieurs ordres de magnitude. Donc, la déhalogénéation conduit à une augmentation de la mobilité des contaminants. Les plumes de contaminations auront donc tendance à s'étendre au cours du processus de décontamination. Notons d'ailleurs que le dernier produit de la chaîne de déhalogénéation, soit le chlorure de vinyle, est considéré par plusieurs comme étant le plus toxique des éthènes chlorés.

1.2 Les techniques de remédiation

1.2.1 *Ex-situ* vs *in situ*

Les méthodes de remédiation traditionnelles reposent sur le principe de la remédiation *ex-situ*. C'est-à-dire que l'on retire la source de contamination soit par excavation telle que le « Dig and pump » (excavation et transport du sol contaminé) ou par pompage tel que le « pump and treat » (pompage, traitement *ex-situ* et réinjection de l'eau traitée). Ces méthodes impliquent des coûts très importants puisque l'on doit fournir des infrastructures et des ressources considérables (systèmes de pompes, bassins de rétention, machinerie lourde, etc).

L'approche *in situ* fournit plusieurs avantages en ce sens puisque les investissements initiaux sont minimisés et requiert une intervention moins invasive. Le traitement *in situ* implique que les intrants du traitement sont appliqués directement dans le lieu contaminé par le biais de puits d'injections et donc que la décontamination se fait sur place. Cette approche, en plus de minimiser les frais, diminue les inconvénients reliés à la remédiation : prenons par exemple le cas d'une source de contamination qui se trouverait sous des infrastructures ou un immeuble. L'injection directe nécessite un certain nombre de puits d'injections, approche beaucoup moins invasive que l'excavation qui implique des dommages aux fondations de l'immeuble.

1.2.2 Oxydation vs réduction

Le traitement des LDNA en milieu oxydant se fait par des processus chimiques oxydatifs tels que l'ozonation (Bellamy et al., 1991), l'oxydation par le persulfate (Tsai et al., 2009), l'oxydation par le réactif de Fenton (Chen et al., 2001), et autre peroxyde (Bellamy et al., 1991; Northup et al., 2008; Tsai et al., 2009; Bhatti et al., 2011). L'addition de quantité importante de peroxyde dans les sols génère une quantité importante de gaz dans un très court laps de temps. Cette production de gaz implique la dispersion des contaminants. De plus, comme le peroxyde réagit très rapidement en contact avec les COVC et avec la matière organique contenue dans les sols, s'en suit une réaction très exothermique. Ceci, combiné avec le fait qu'une grande quantité de gaz est produite peut volatiliser les COVC et créer un nouveau vecteur de contamination et/ou altérer la structure du sol. Il faut donc être très prudent lorsque l'on utilise ces produits dans le design d'un système de remédiation. Il devient crucial de bien contrôler et doser la quantité d'oxyde injectée (Chen et al., 2001).

Même s'il est possible d'effectuer un traitement oxydatif de façon in situ il faut prendre en considération que les aquifères sont généralement des environnements relativement anoxiques et réducteurs. On va donc à l'encontre des conditions naturelles du milieu. Les COVC sont plus oxydés que leurs analogues non halogénés dus à la présence de substituant fortement électronégatif, ils tendent à une plus grande stabilité en milieu oxydant. Les composés organiques poly halogénés tendent à être résistants à la biodégradation dans des environnements oxydants (Pavlostathis et al., 2002). La déhalogénéation oxydative s'arrête souvent aux intermédiaires de DCE et VC (McCarty et al. 1994, Shim et al., 2001) or la déhalogénéation des composés chlorés n'est souhaitable que si elle s'effectue complètement jusqu'à un composé inoffensif. Pour toutes ces raisons, la réduction des COVC est plus probable que l'oxydation et ceci est d'autant plus vrai lorsque le degré d'halogénéation augmente (Pavlostathis et al., 2002). Il est bien établi que la dégradation la plus efficace pour les COVC se produit en milieu réducteur (Moretti, 2005; Pavlostathis et al., 2002; Wiedemeier et al., 1998).

1.2.3 La bioremédiation

Le terme bioremédiation fait référence au fait que la décontamination ou la transformation du produit est effectuée par des microorganismes qui peuvent être indigènes au milieu ou introduits.

Dans certains cas, les conditions environnementales sont adéquates à la décontamination, la contamination peut donc se résorber d'elle-même par l'entremise des bactéries déhalogénatrices déjà présentes dans le milieu. Il suffit de contrôler la contamination en effectuant des analyses périodiquement (Weidemeier et al., 1998) afin d'éviter une accumulation des produits de dégradations. On parle dans ce cas d'« atténuation naturelle contrôlée ».

Toutefois, lorsque les conditions sont inadéquates à la décontamination on parle d'« atténuation naturelle accélérée » soit par biostimulation ou bioaugmentation (Weidemeier et al., 1998; Lendvay et al., 2003) :

- Bioaugmentation

La bioaugmentation implique l'inoculation d'un consortium de bactéries déhalogénatrices lorsque celles-ci sont insuffisantes ou absentes du milieu.

- Biostimulation

La biostimulation implique la modification du milieu lorsque les conditions sont peu propices à la prolifération des bactéries déhalogénatrices. On parle notamment d'injection de substrat pour soutenir la croissance des bactéries. Dans certains cas, l'altération des conditions physico-chimiques et biogéochimiques est requise pour soutenir un environnement idéal pour les bactéries déhalogénatrices. Cette modification des conditions géochimiques peut se faire par injection de métaux sous forme réduite entre autres pour obtenir un milieu suffisamment réducteur.

1.2.4 La bioremédiation *in situ* par réduction des COVC

Le présent projet s'inscrit dans un cadre d'une « *atténuation naturelle accélérée* » par le biais de la méthode de décontamination *in situ*. On voudra donc créer un environnement propice à la dégradation des COVC et donc à la croissance des bactéries déhalogénatrices déjà présentes dans le milieu, ceci implique donc le principe de la biostimulation. On cherche à créer un produit qui une fois injecté directement dans la zone contaminée (décontamination *in situ*), favorisera la création d'un milieu suffisamment réducteur et riches en nutriments pour les souches déhalogénatrices. Ce produit, sous forme d'émulsion, aura toutes les qualités requises pour créer les conditions nécessaires à la déchloration réductrice dans le milieu contaminé.

1.3 Les voies de dégradation réductives des COVC en milieu anaérobique

Les voies de dégradation des COVC sont multiples, cependant nous approcherons dans cette section que les réactions chimiques impliquées dans la dégradation en milieu anaérobique puisque les conditions expérimentales n'impliquent que celle-ci et surtout ce sont les conditions qui prévalent dans les aquifères. Il est aussi important de faire certaines distinctions entre les processus dits biologiques et ceux dits abiotiques ainsi que de préciser certains termes avant d'aller plus loin.

1.3.1 Dégradation biologique

Le terme biologique ou biotique fait référence au fait que la dégradation des COVC est réalisée par des réactions enzymatiques présentes chez certaines bactéries. La réaction enzymatique se fait soit métaboliquement ou co-métaboliquement. La déhalogénéation réductive séquentielle, qui est une réaction catalysée enzymatiquement, serait le plus important processus de dégradation biologique des éthènes chlorés selon le USEPA (Moretti, 2005).

- Réaction métabolique

La bactérie est capable de coupler la déchloration avec la production d'adénosine triphosphate (ATP). Cette réaction implique donc un gain d'énergie pour la bactérie (Holliger et Wohlfarth, 1998a). Dans le cas des bactéries capables d'utiliser les hydrocarbures aliphatiques chlorés comme accepteurs d'électrons, ce processus est appelé déhalogénéation. La déhalogénéation implique un gain d'énergie ce qui n'est pas nécessairement le cas dans la déchloration biologique.

- Co-métabolisme

Il s'agit de la dégradation d'hydrocarbures aliphatiques chlorés par des enzymes ou cofacteurs qui sont produits fortuitement par les microorganismes pour d'autres fins, il n'y donc pas de gain d'énergie pour les microorganismes. Cette dégradation est mieux documentée en milieu aérobique. Le taux de dégradation co-métabolique augmenterait avec la diminution du taux de déchloration (Vogel et al., 1987).

1.3.2 Dégradation abiotique

Le terme abiotique fait référence au fait que la réduction des COVC est effectuée sans la participation de bactéries déhalogénatrices. Une dégradation abiotique implique qu'une source de donneurs d'électrons soit présente tels que les métaux sous formes réduites. La dégradation abiotique des COVC peut se faire par dichloroélimination (aussi connue sous le nom d'élimination β) et par hydrogénolyse (Slater, 2003). La dichloroélimination semble être la voie de dégradation prédominante dans le cadre de la dégradation abiotique (Lee et Batchelor, 2002a, 2002b).

1.3.3 La déchloration des éthènes et éthanes chlorés en milieu anaérobique

Le présent projet porte essentiellement sur la décontamination des éthènes chlorés. Néanmoins, les voies de dégradation des éthanes chlorés sont présentées dans le but de

mesurer l'importance de bien caractériser tous les contaminants présents dans le milieu puisque certains éthènes chlorés peuvent provenir de la dégradation des éthanes chlorés.

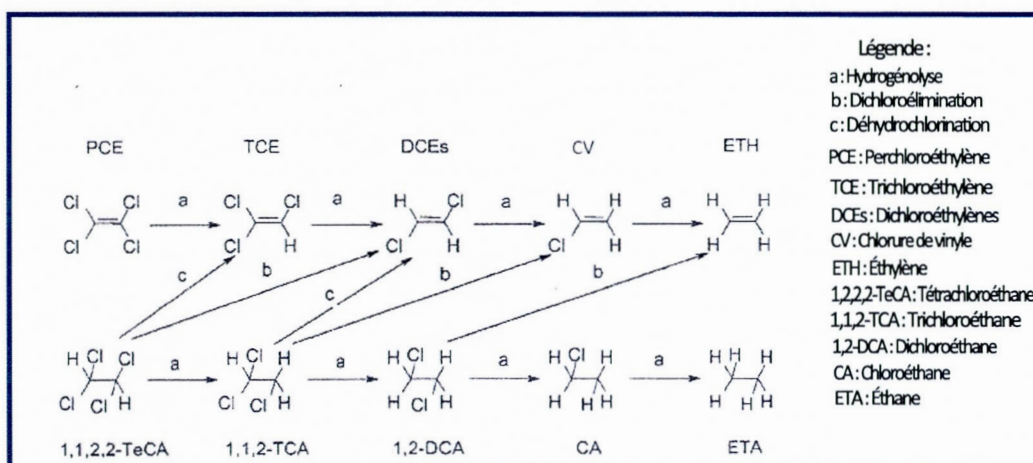


Figure 1.2 : Voie de dégradation des éthanes et éthènes chlorés en milieu anaérobie.

Adapté de Aulenta et al., 2006.

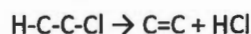
En observant la figure 2, on comprend bien que la dégradation des éthènes chlorés en milieu anaérobie implique une série d'hydrogénolyse. La réduction du tétrachloroéthane, trichloroéthane et dichloroéthane soit par dehydrochlorination ou dichloroélimination conduit à la formation d'éthylènes chlorés.

1.4 Les réactions chimiques impliquées dans la dégradation des COVC en milieu anaérobie

La prochaine section décrit sommairement les principales réactions chimiques impliquées dans la dégradation anaérobique des éthanes et des éthènes chlorés afin de bien faire la distinction entre les différentes voies de dégradations des composés organiques chlorés.

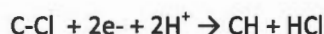
1.4.1 Déhydrohalogénéation (ou déhalogénéation éliminative)

Cette réaction convertit un éthane chloré en un éthène moins chloré. Il y a donc apparition d'un lien double et perte d'un hydrogène et d'un halogène. Cette réaction est exclusivement abiotique et ne nécessite pas l'apport d'électron. Cette réaction est impliquée dans la transformation du tétrachloroéthane en trichloroéthylène selon la réaction suivante (Lorah et al., 2007) :



1.4.2 Déhalogénéation réductrice

Il s'agit du plus important processus de déchloration des COVCs en milieu réducteur (Weidemeier et al., 1998). La déhalogénéation réductrice implique un processus de réduction soit le remplacement d'un atome de chlore par un atome d'hydrogène (Moretti, 2005). Les composés organiques chlorés agissent comme accepteurs d'électrons. La déchloration réductrice nécessite la présence de donneurs d'électrons provenant de la dégradation de substrats de carbones ou de l'hydrogène gazeux (H_2) selon la réaction suivante (Lorah et al., 2007) :



Chez *Dehalococcoides Ethenogenes* sp., ce sont les enzymes appelés déhalogénases réductrices qui sont responsables de ce processus de déhalogénéation (Fournier St-Laurent, 2009; Hollinger et al., 1998) soit la PCE Déhalogénase (PCE-RDase) et la TCE Déhalogénase (TCE-RDase). La PCE-RDase n'utilise que le PCE, alors que la TCE-RDase présente chez *D. Ethenogenes* est une des rares enzymes capables de transformer le DCE et le CV.

Dans le cas de la déhalogénéation réductrice abiotique, ce sont des métaux sous forme réduite qui sont responsables de catalyser la réaction tel que le fer ferreux (Fe^{2+}). Notons que la présence de métaux sous leur forme réduite en milieu anoxique aide à la création de conditions physico-chimiques propice à déhalogénéation biologique. Ce sujet sera traité dans la section 1.9.2 (*Le rôle du potentiel d'oxydoréduction dans la dégradation des éthylènes chlorés*).

1.4.2.1 *Hydrogénolyse*

La déhalogénéation biologique implique une série d'hydrogénolyse avec production de composé de moins en moins chloré. L'hydrogène gazeux (H_2) réagit avec l'éthène ou l'éthane pour remplacer un atome de chlore par un atome d'hydrogène. Le composé résultant possède donc un chlore en moins et il y a formation d'acide chlorhydrique. L'hydrogène gazeux agit donc comme donneur d'électron et le composé organique est réduit (Lorah et al., 2007).



1.4.2.2 *Dichloroélimination (élimination β)*

La dichloroélimination, aussi appelée élimination β , est une réaction qui implique le remplacement simultané de deux atomes de chlores par des atomes d'hydrogène.

Les métaux sous forme réduite quand mis en contact direct avec les produits chlorés servent de donneurs d'électron selon la réaction suivante (Zang et Elliot, 2006) :

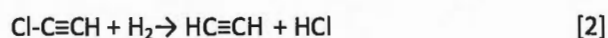


- Chez les éthènes

Cette réaction se produit de façon abiotique seulement en présence de métaux sous forme réduite chez les éthènes. La dichloroélimination ou élimination β , serait le processus de déchloration le plus important lors de la réduction abiotique des éthènes chlorés (Lee et Batchelor, 2002b; Aulenta et al., 2006). Il y a donc formation d'un lien supplémentaire entre les atomes de carbones et double déhalogénéation. La déchloration des éthènes implique donc la formation de chloroacétylène ($TCE \rightarrow$ chloroacétylène) et d'acétylène ($DCE \rightarrow$ acétylène) selon la réaction suivante :



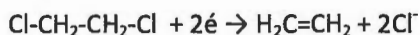
Notons que l'acétylène et le chloroacétylène étant des produits très instables ils se transformeront très rapidement en éthylène par hydrogénolyse. Le chloroacétylène se transformera rapidement en acétylène et l'acétylène étant lui-même un produit instable, sera rapidement transformé en éthylène et/ou en éthane par une réduction supplémentaire (Lee et Batchelor, 2004a) selon les réactions suivantes :



La présence et la quantification précise de l'acétylène et des acétylènes chlorés sont difficiles pour cette raison. On peut cependant quantifier l'éthylène et l'éthane assez aisément.

- Chez les éthanes

La dichloroélimination est aussi impliquée dans la dégradation des éthanes chlorés (Aulenta et al., 2006). Elle implique le remplacement de deux atomes de chlores par des atomes d'hydrogène et la formation d'un lien double entre les carbones pour former un éthène moins chloré. Il s'agit d'une réduction où l'apport de deux électrons est nécessaire. Cette réaction est impliquée dans la transformation du tétrachloroéthane en dichloroéthylène, et dans la transformation du trichloroéthane en chlorure de vinyle.



1.5 La biodégradation des éthènes chlorés

Plusieurs composés organiques anthropogéniques peuvent être dégradés dans l'environnement par des processus biogéochimiques naturels. Plusieurs de ces processus d'atténuation naturels sont contrôlés par les microorganismes présents dans l'environnement. La déhalogénéation réductive séquentielle est le processus de dégradation naturelle le plus commun et le plus efficace selon Moretti (2005). Pour cette raison, la création et/ou le maintien de conditions réductives est souhaitable.

1.5.1 Déhalogénéation réductive séquentielle

La déchloration réductrice séquentielle est faite de façon biologique par les bactéries

déhalogénatrices, il s'agit d'un processus séquentiel de réduction qui implique une série de réaction d'hydrogénolyse jusqu'à la formation d'éthylène. Les composés organiques chlorés agissent comme accepteur d'électron et ce sont des réactions enzymatiques ou co-métaboliques qui catalysent les réactions. Cette voie de dégradation est la voie de dégradation la plus importante dans les conditions naturelles en ce qui concerne les éthylènes chlorés.

La série de réactions impliquées dans la biodégradation réductive séquentielle est schématisée dans la figure 1.3 (*Séquence de déhalogénération réductive biologique*).

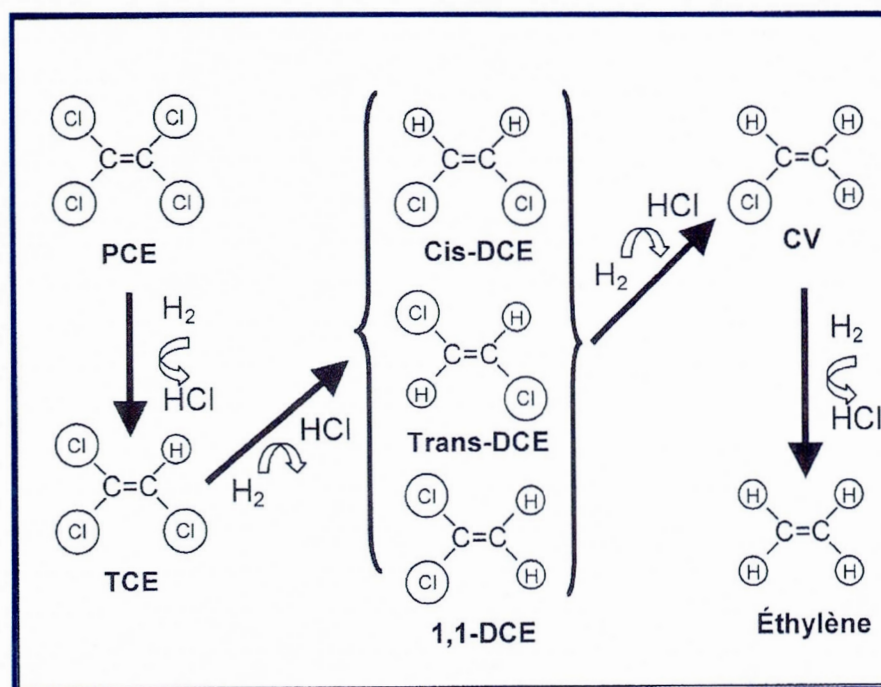


Figure 1.3 : Séquence de déhalogénération réductive biologique

Tiré de Bianchi, 2009; Adapté de Wiedmeier, 1998.

La séquence de réaction est la suivante : le perchloroéthylène est dégradé en trichloroéthylène, qui est à son tour dégradé en dichloroéthylène. Les différentes formes de DCE sont transformées en chlorure de vinyle. Le chlorure de vinyle est dégradé par les bactéries déhalogénatrices en éthylène et/ou en éthane qui sont des produits gazeux non toxiques et sans danger pour l'environnement.

Théoriquement les trois isomères de DCE peuvent être présents après la dégradation du TCE, mais la littérature (Bouwer, 1994; Moretti, 2005) rapporte que le cis-DCE est beaucoup plus

commun que le trans-DCE qui est lui-même produit en plus grande quantité que le 1,1-DCE lorsque la dégradation est faite de façon biologique.

1.5.2 Profil de déchloration par réduction séquentielle biologique

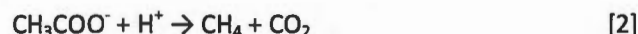
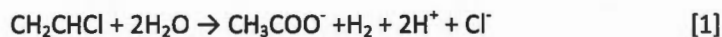
Le PCE est le composé qui est le plus susceptible d'être déchloré par la déchloration réductrice puisque c'est le composé le plus oxydé. En contrepartie, le VC est le composé le moins susceptible à la déchloration réductrice puisqu'il s'agit du composé le plus réduit (Weidemeier et al., 1998.; Kendelewicz, 2000). Donc le taux de déchloration diminue avec le degré de chloration. C'est cette diminution dans le taux de déchloration qui explique l'accumulation de VC dans les panaches de contaminations aux COVC en traitement (Fetznet et al., 1998; Murray et Richardson, 1993; National Research Council, 2000).

Lors de la déchloration réductrice biologique, on peut diviser le processus en 3 phases. Il y aura premièrement une augmentation assez rapide des concentrations en DCE et TCE aux dépens du PCE. Lorsque le PCE ne sera présent qu'en trace, on verra apparaître le CV aux dépens des autres intermédiaires (DCE, TCE). L'éthylène ne sera produit qu'une fois tous les autres produits chlorés transformés en CV. On aura donc une accumulation de CV suivi de la disparition progressive de celui-ci couplé à l'apparition de l'éthylène et/ou d'éthane (Maymò-Gatell et al., 1997). C'est donc la réduction des produits les moins chlorés qui sont les plus sensibles à la quantité d'hydrogène moléculaire disponible. Premièrement, parce qu'il n'y a que très peu de souches bactériennes capables de déchlorer efficacement ces composés et parce que leur taux de déhalogénéation par *D. Ethenogenes* est beaucoup plus faible pour le DCE et le CV que pour le TCE et le PCE. La déchloration du CV (et donc la formation de l'éthylène) par *D. Ethenogenes* est dix fois plus lente que pour la déchloration du cis-DCE (Aulenta et al., 2006).

1.5.3 Biooxydation anaérobique des éthènes chlorés

Il faut aussi prendre en considération que certaines bactéries méthanogènes peuvent être responsables de la transformation directe du chlorure de vinyle en méthane et en dioxyde de carbone. Bien que certains auteurs apportent des évidences en ce sens (Bradley et Chapelle, 1999a, 1999b, 2002; Reid, 2010), les souches bactériennes responsables de cette transformation n'ont pas été isolées ou identifiées à ce jour. Selon Bradley et Chapelle (1999b), la réaction

de déhalogénéation se produit par méthanogénèse acétotrophique, il s'agit en fait d'une biooxydation anaérobie selon les réactions suivantes :



1.6 Les bactéries déhalogénatrices

Plusieurs souches de bactéries ont été identifiées comme étant des bactéries déhalogénatrices telles que *Dehalococcoides* sp., *Dehalobacter Restrictus*, *Sulfurospirillum multivorans*, *Desulfuromonas* sp., *Desulfitobactérium Y51*, *Geobacter loveyi*, *Clostridium bifermentan*, DPH-1, MS1, TEA, *Desulfuromonas chloroethenica*, *Desulfito bacterium* (Lorah et al., 2003; Aluenta et al., 2006; Cupples et al., 2004; Holliger et al., 1997b; Grostern et Edwards, 2006; Major et al., 2002; Lu et al., 2006; Nijenhuis et al., 2005; Wild et al., 1997; Yoolboong et al., 2006). Toutefois la plupart de ces bactéries sont incapables de déchlorer au-delà du TCE ou du DCE. Seule la souche *Dehalococcoides* sp. a été identifiée comme pouvant effectuer une déhalogénéation complète du PCE jusqu'à l'éthylène (Maymò-Gatell et al., 2001^{a,b}). L'absence de cette souche est souvent démontrée par la stagnation de la déchloration au cis-DCE ou au CV (Moretti, 2005; Lorah et al., 2004). La souche *Dehalococcoides BAVI*, isolée par He et al. (2003), peut déchlorer métaboliquement le DCE en CV et le CV en éthylène. De plus, c'est la seule souche bactérienne capable de déchlorer les trois isomères du DCE : cis, trans et iso (Moretti, 2005; He et al., 2003). La souche *Dehalococcoides VS* peut aussi dégrader le DCE et le VC avec un gain d'énergie (Cupples et al., 2004). C'est donc qu'en présence de *Dehalococcoides* sp. la déchloration peut procéder sans l'accumulation de VC qui est de loin le composé le plus toxique de la chaîne. Les espèces de *Dehalococcoides* les mieux connues sont présentées dans le tableau 1-2 (*Description des différentes souches de Dehalococcoides* sp.). Comme mentionné précédemment, certaines bactéries méthanogènes peuvent être responsables de la transformation directe du chlorure de vinyle en méthane. Certains auteurs apportent des évidences en ce sens (Bradley et Chapelle, 1998 et 1999; Reid, 2010), cependant les souches bactériennes de cette transformation n'ont pas été isolées ou identifiées à ce jour.

Tableau 1.2 : Description des différentes souches de *Dehalococcoides sp.*

Souche bactérienne	PCE→TCE	TCE→DCE	DCE→VC	VC→Éthylène
<i>Dehalococcoides 195</i> (Maymò-Gatell, 1997)	Oui (M)	Oui (M)	Oui (M) Forme cis	Oui (C)
<i>Dehalococcoides BAVI</i> (He et al., 2003)	Oui (C)	Oui (C)	Oui (M) Forme cis	Oui (M)
<i>Dehalococcoides VS</i> (Cupples et al., 2004)	Oui (C)	Oui (M)	Oui (M) Forme cis	Oui (M)
<i>Dehalococcoides FL2</i> (He et al., 2005)	Oui (C)	Oui (M)	Oui (M) Forme cis	Oui (C)
<i>Dehalococcoides BDB1</i> (Lu et al., 2006)	Oui(?)	Oui(?)	Oui(?) Forme trans	Non

M : réaction métabolique

C : réaction co-métabolique

1.6.1 *Dehalococcoides sp.*

Dehalococcoides sp., est encore à ce jour la seule souche bactérienne connue qui est capable de déhalogéner tous les éthènes chlorés jusqu'à l'éthylène. *Dehalococcoides sp.* est une bactérie anaérobie stricte et est donc très sensible à la présence d'oxygène. D'ailleurs les enzymes responsables de la dégradation des COVC (TCE RDase et PCE RDase) sont situées dans la paroi cellulaire de la bactérie. Donc une très faible exposition à l'air risque d'altérer la capacité de la bactérie à transformer les éthènes chlorés.

Il est assez bien documenté maintenant que les cultures de *Dehalococcoides sp.* pures sont très lentes à croître et que les médiums de cultures sont très complexes pour soutenir la croissance de ces bactéries (Fournier St-Laurent, 2009; Maymò-Gatell et al., 1997). Les consortiums de bactéries présentent naturellement dans les sites contaminés sont beaucoup plus efficaces en

termes de taux de croissance et de taux de décontamination. Il existe plusieurs consortiums disponibles commercialement qui ont été étudiés KB-1 (Duhamel 2006), ANAS et Pinellas (Cupples et al., 2002; He et al., 2003; Richardson et al., 2002). La complexité de ces mélanges de cultures et les relations entre les différentes espèces sont encore mal connues. Il devient toutefois évident que le maintien d'une culture mixte est plus aisé.

Dehalococcoides sp. n'utilise que l'hydrogène comme donneur d'électron et utilise exclusivement les produits chlorés comme receveurs d'électrons (Becker, 2006; Fennell et al., 1997; Yang et McCarty, 1998). Il faut donc s'assurer de fournir suffisamment d'hydrogène soit par une quantité suffisante de substrats qui libéreront des protons durant la dégradation, soit en introduisant des métaux sous formes réduites tel que le fer ferreux qui formera de l'hydrogène gazeux par hydrolyse de l'eau dans des conditions anaérobiques. Le limitant dans la réaction de dégradation des COVC est donc la concentration en H_2 (Aluenta et al. 2006). Certains types de bactéries telles que *Geobacter Metallireducens* peuvent d'ailleurs contribuer à créer un environnement propice à la croissance de *Dehalococcoides* sp. en réduisant les métaux déjà présents dans l'environnement (Sung et al., 2006). Ces métaux réduits pourront à leur tour produire de l'hydrogène gazeux (H_2) par hydrolyse de l'eau (Zang et Elliot, 2006). Il est cependant important de fournir une pression d'hydrogène relativement faible pour avantager la flore bactérienne déhalogénatrice, une trop grande pression d'hydrogène peut avantager des communautés bactériennes méthanogènes ou réductrices de sulfate au dépend de *Dehalococcoides* et autres souches déhalogénatrices (Becker, 2006; Fennell et al., 1997; Yang et McCarty, 1998). Les substrats qui se dégradent lentement peuvent fournir une source stable d'électrons tout en maintenant une pression partielle faible en H_2 (Freeborn et al., 2005). Il faudra aussi bien choisir les substrats primaires (source de carbone) que l'on voudra fournir aux bactéries déhaloréductrices pour éviter de réduire le taux de déchloration en créant une compétition entre les accepteurs d'électrons.

1.7 Le rôle des substrats

Le substrat agira en tant que source de carbone essentielle à la croissance des bactéries et en tant que source d'électron.

Selon le Conseil National de recherche des États-Unis (National Research Council, 2000), il y a souvent accumulation de composés intermédiaires dans les conditions naturelles d'eau souterraine. Deux causes majeures de dégradation incomplète sont mentionnées. La première serait le manque de matière organique qui sert de source de carbone pour les bactéries déhalogénatrices. La seconde raison serait des conditions insuffisamment réductrices, d'où la nécessité de fournir des donneurs d'électrons dans le cadre d'un projet de décontamination de LDPNA puisque la dégradation des substrats en milieu anaérobique produit de l'hydrogène moléculaire.

1.7.1 Choix d'un substrat

Le plus souvent, ce sont des composés organiques qui sont utilisés comme donneurs d'électrons. Plusieurs composés organiques peuvent être utilisés : pentanol, méthanol, éthanol, mélasse, benzoate, huile végétale, oléate de calcium, compost et des produits commerciaux qui libèrent de l'hydrogène lentement (slow hydrogen release compounds : HRCs) selon le AFCEE (2007). On peut injecter de l'hydrogène directement dans l'aquifère, mais cette méthode comporte plusieurs désavantages puisque l'hydrogène est peu soluble (à peu près 1mM). L'injection d'hydrogène implique la formation d'acide chlorhydrique ce qui peut causer des problèmes significatifs en terme d'acidification du milieu et avantager des populations bactériennes compétitrices aux souches bactériennes déhalogénatrices.

Le choix du substrat dépend du design du système de remédiation, du type de sol dans lequel se trouve le LDPNA et du type de panache. Dans le cas d'une contamination dans un aquifère avec un débit à grande vitesse, et dans le cas de contamination qui atteint une grande profondeur, on voudra utiliser des substrats solubles. L'éthanol et le méthanol sont de ceux-là, grâce à leur affinité pour le LDPNA (Moretti, 2005), ils peuvent augmenter la solubilité des contaminants et augmenter l'efficacité de la décontamination par la solubilisation des COVC. Toutefois l'utilisation des substrats solubles est plus coûteuse puisqu'ils sont utilisés plus rapidement par les bactéries et possèdent une plus grande mobilité, les réinjections doivent être plus

fréquentes, ils permettent toutefois une distribution uniforme (AFCEE, 2004). Certains substrats qui possèdent une densité plus élevée que le LDPNA peuvent atteindre des endroits plus profonds tels que la mélasse et le lactate. Leurs coûts d'utilisation sont moins élevés, mais ils permettent une moins grande uniformité dans la distribution. On peut aussi utiliser des substrats visqueux tels que les huiles végétales. Leurs mobilités est moindres, mais ils libèrent l'hydrogène plus lentement, souvent une seule injection est requise ce qui en fait un produit relativement économique, mais ne permet pas de réajuster le tir quand la distribution est non uniforme et que le contact entre le substrat et le panache est insuffisant. Ces substrats peuvent aussi altérer les propriétés du milieu en diminuant la perméabilité et en limitant la mobilité des contaminants (AFCEE, 2004). Une émulsion des huiles peut préférer une plus grande mobilité à ces substrats tout en demeurant des donneurs d'hydrogène à libération lente (Bianchi, 2009; AFCEE, 2004; Lu et al., 2006; AFCEE, 2007).

Certains substrats peuvent augmenter la solubilité des éthènes chlorés dans un contexte d'un LDPNA et donc aident à la biodisponibilité des contaminants (Moretti, 2005; Macbeth, 2006; Yang et McCarty, 2002a, 2002b). Mentionnons l'acide lactique, l'extrait de levure et les émulsions qui agissent comme surfactants naturels en plus de servir de donneurs d'électron. Ces intrants feront d'ailleurs partie du présent projet de recherche.

1.7.2 Rôle des substrats à libération lente d'hydrogène (slow HRCs)

La souche *Dehalococcoides* sp. est généralement reconnu comme jouant un rôle critique dans la déhalogénéation complète des COVC, or cette souche utilise exclusivement l'hydrogène moléculaire comme donneur d'électron (Becker, 2006; Fennell et al., 1997; Yang et McCarty, 1998). Il faut donc assurer une pression en H_2 suffisante. Il a été démontré que les souches responsables de la respiration déhalogénatrice ont une affinité plus grande pour l'hydrogène moléculaire que les autres espèces hydrogénotrophes (Fennell et al., 1997; Yang et McCarty, 1998). Pour cette raison il est préférable d'utiliser un substrat à libération lente d'hydrogène pour avantager la croissance de *Dehalococcoides* sp. et limiter la compétition (Freeborn et al., 2005; Sung et al., 2006). Les substrats à libération lente utilisés sont en général des composés organiques plus complexes tels que les mélasses, les huiles, l'extrait de levure, le lait, le petit-lait, etc. L'huile végétale, l'extrait de levure et le petit-lait (ou lactosérum) font partie de cette catégorie et seront des intrants dans le présent projet de recherche.

1.8 Déchloration abiotique des éthylènes chlorés

Comme mentionnée précédemment, la déchloration des composés aliphatiques chlorés peut se faire de façon abiotique. La déchloration par les métaux zéro valents et sous forme réduite se fait donc par dichloroélimination (ou élimination β). Dans ce cas le métal agit comme catalyseur dans la réaction. Cette réaction forme des produits intermédiaires chlorés de la famille des acétylènes.

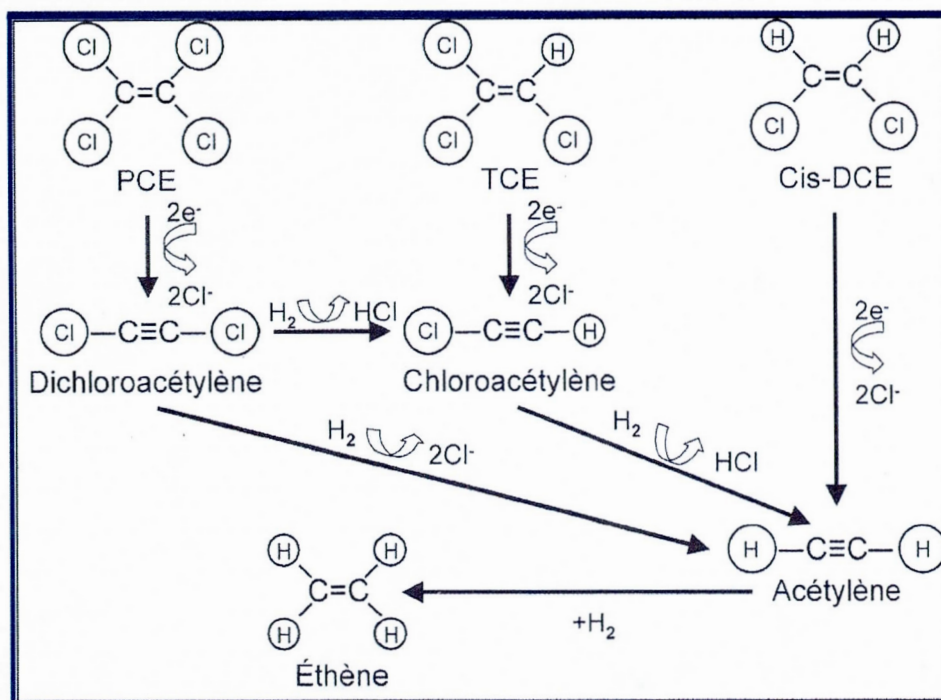


Figure 1.4 : Déchloration abiotique du PCE par dichloroélimination

Tiré de Bianchi, 2009 (Adapté de Lee et Batchelor (2002a,2004b).

1.8.1 Profil de déchloration

En ce qui concerne la réduction abiotique par les métaux, la constante cinétique de déchloration du PCE (8.38×10^{-7}) est légèrement supérieure au TCE (7.21×10^{-7}). Le DCE (5.60×10^{-7}) et le CV (5.64×10^{-7}) possèdent des constantes de cinétiques du même ordre de grandeur, mais légèrement inférieures aux constantes du PCE et TCE selon Lee et Batchelor (2002a). Donc les métaux réduits s'attaqueraient à tous les composés chlorés avec très peu de discernement, mais en avantageant légèrement la dégradation du TCE et du PCE.

1.8.2 La Magnétite et son rôle dans la déchloration des COVC

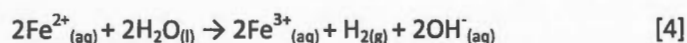
La magnétite est de plus en plus utilisée comme intrant dans les projets de décontamination à la fois pour les composés aliphatiques chlorés que pour les contaminations en métaux lourds (O'Loughlin et al., 2003, 2004; Ferrey et al., 2004; Lee et Batchelor, 2004a, 2004b; Maithreepala et Doong, 2005; Lee et al., 2009). Les propriétés réductrices de la magnétite sont à l'origine de l'intérêt porté à cette dernière. Notons que fer zéro valent a été utilisé dans plusieurs études (Wang et Zhang, 1997; Nuxoll et al., 2003; Henn et Waddill, 2006; Lo et al., 2006; Shin et al., 2008) mais que certains auteurs (Noubactep, 2006) attribuent la décontamination davantage à la conductivité électrochimique du couple d'oxydoréduction $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ après la corrosion du fer zéro valent et donc à la conductivité électrochimique de la magnétite formée autour des particules zérovalentes.

La formule chimique de la magnétite s'écrit comme suit : $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$, elle possède donc un ratio de $\frac{1}{3}$ de fer ferreux (Fe^{2+}) sur fer ferrique (Fe^{3+}). Basé sur le mécanisme de corrosion du fer en immersion, on exploite la conductivité électrochimique du couple $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ (Noubactep, 2006).



L'oxydation du fer ferreux présent dans la magnétite fournit des électrons (équation 1) qui serviront en premier lieu à épuiser l'oxygène dissout dans l'eau (équation 2). Ensuite, dans un environnement anoxique, l'hydrolyse de l'eau par la corrosion de fer fournit de l'hydrogène moléculaire (équation 3) essentiel au maintien des bactéries déhalogénatrices hydrogénotrophes.

En milieu aqueux anoxique la réaction nette devient (Kendelewicz, 2000) :



Le taux de dégradation des composés organiques chlorés serait proportionnel aux nombres de sites réactifs sur les minéraux réducteurs dans le sol. Un contact direct entre les COVC et les sites réactifs seraient essentiels à la déhalogénéation (Lee et Batchelor, 2002a). Il a été démontré

que l'ajout de fer ferreux en suspension augmente l'efficacité de la magnétite (Lee et Batchelor, 2002b; Noubactep, 2006) surtout en ce qui concerne la transformation du cis-DCE et du CV en éthylène /éthane. Notons que *Geobacter metallireducens* peut aussi fournir des solutions en ce sens puisque cette bactérie réduit le fer ferrique en solution dans le milieu pour fournir du fer ferreux (Sung et al., 2006).

Sans la présence de donneurs d'électrons il y a parfois accumulation de cis-DCE et de CV. La réduction de ces deux produits de dégradation serait plus sensible à la pression d'hydrogène moléculaire que le TCE et PCE (Sleep, 2005; Becker, 2006; DiStefano, 2001). Ceci étant vrai à la fois pour les réactions d'élimination β (cis-DCE) et pour l'hydrogénolyse (CV).

Selon Lee et Batchelor (2002a), lors de la déhalogénéation par la magnétite, le PCE, le TCE et le DCE suivent la voie de dégradation par dichloroélimination (élimination β) pour former des acétylènes. Le chlorure de vinyle lui emprunterait la voie de l'hydrogénolyse pour former de l'éthylène et/ou de l'éthane.

1.8.3 La vitamine B₁₂ (Cobalamine)

Plusieurs études ont démontré que la dégradation du PCE est accélérée par la vitamine B₁₂ aussi nommée cobalamine (Dror et al., 2004; McCauley et al., 2005; Kim et Carraway, 2002; Koenig et al., 2012; Lesage et al., 1996; Maymò-Gatell et al., 1995).

La vitamine B₁₂ possède une structure comparable à la PCE RDase et la TCE RDase avec un atome de cobalt en son centre. L'activité de déchloration du TCE et du CV de la TCE RDase présente aussi des similitudes avec la vitamine B₁₂. Il est établi que l'activité de déchloration de *D. Ethenogenes* est stimulée par de fortes concentrations de cette vitamine (Maymò-Gatell et al., 1995; Aulenta et al., 2006). La vitamine B₁₂, contrairement à la plupart des enzymes, même si elle est séparée de sa protéine, conservent son activité catalytique (Lesage et al., 1996). De plus, des concentrations de contaminants élevés n'ont aucun effet sur le taux de déchloration, contrairement à la déchloration biologique où une trop grande concentration aurait des effets inhibitoires sur la croissance des bactéries (Lesage et al., 1996). Koenig et al. (2012) rapportent que la transformation de méthane chloré est augmentée par 13 ordres de grandeur avec la présence de vitamine B₁₂. Cependant la vitamine B₁₂ est dépendante de la présence de métaux

sous forme réduite pour passer de la forme $B_{12}Co(III)$ à la forme réduite $B_{12}Co(I)$, soit la forme la plus efficace pour le transfert d'électron (Kim et Carraway, 2002). Il semble qu'il y ait plusieurs mécanismes impliqués dans la dégradation du PCE par la B_{12} puisque dans les premiers stades de déchloration du cis-DCE, de l'acétylène, de l'éthylène et de l'éthane sont tous produits simultanément. Ensuite l'éthylène et l'éthane sont les principaux produits. Dans le stade final, c'est le produit le plus réduit qui est dominant, soit l'éthane (Dror, 2004; McCauley et al., 2005).

1.9 Les paramètres physico-chimiques

Certains facteurs physico-chimiques sont très importants à la fois pour la croissance de *Dehalococcoides sp.* et pour assurer des conditions environnementales propices à la déchloration réductrice. Cette section aborde les principaux facteurs.

1.9.1 Effet du pH sur le taux de dégradation des éthylènes chlorés

Le pH dans un premier lieu peut limiter la croissance des bactéries déhalogénatrices s'il n'est pas maintenu dans une gamme située entre 6 et 8 (Moretti, 2005). De plus la fermentation des substrats produit de l'hydrogène et des acides organiques qui peuvent diminuer le pH dans l'aquifère. Il faut donc bien suivre l'évolution du pH dans le temps. Le taux de déchloration diminue et la croissance bactérienne est inhibée si le pH n'est pas maintenu près de la neutralité (Mora et al., 2008; Moretti, 2005; McCarty et al., 2007).

1.9.2 Le rôle du potentiel d'oxydoréduction dans la dégradation des éthylènes chlorés

Le potentiel d'oxydoréduction est très important dans le processus de décontamination biologique des COVC. Selon Moretti (2005), le potentiel d'oxydoréduction devrait demeurer sous la valeur de -100mV dans la zone de traitement. Des valeurs supérieures à celles-là indiqueraient un manque de substrats. Aussi des concentrations en oxygène supérieures à 1mg/L indiquent un manque de substrat. Le tableau 1-3 (*Potentiel redox et mécanismes de biodégradations*) fait le parallèle entre les classes bactériennes et les mécanismes de biodégradations qui dominent selon les conditions d'oxydo-réduction.

Tableau 1.3 : Potentiel redox et mécanismes de biodégradations

Classe bactérienne d'accepteur d'électron	Mécanisme de biodégradation prédominant	Potentiel redox (mV)
Réducteur d'oxygène	Oxydation aérobie	≥ 600
Réducteur de nitrate	Déchloration réductive	250-100
Réducteur de fer (III)	Déchloration réductive	100-0
Réducteur de manganèse (IV)	Déchloration réductive	0 à -200
Réducteur de sulfate	Déchloration réductive	0 à -200
Méthanogène	Déchloration réductive	≤ -200

Tableau adapté de Moretti (2005)

La déchloration réductrice séquentielle est efficace dans des conditions très réductrices. Les conditions de méthanogénèse sont les plus favorables pour les bactéries déhalogénatrices (Weidemeier et al., 1998; Yang et McCarty, 1998). Dans des conditions réductrices telles que celles réductrices de sulfates, la dégradation des organochlorés peuvent stagner aux cDCE. Le PCE et TCE peuvent être dégradés dans des conditions réductrices de sulfates, mais la dégradation complète en éthylène/éthane nécessite des conditions de méthanogénèse (Moretti, 2005; Lu et al., 2006; Maymò-Gatell, 1997; USEPA, 2006; Bouwer, 1994). Les conditions de méthanogénèse sont généralement considérées comme étant atteinte avec des concentrations en méthane dissout de 1 mg/L (Lu et al., 2006).

1.9.3 Les nitrates et sulfates

Weidemeier et al. (1998) suggère que la déchloration réductrice ne devrait pas être attendue avec des concentrations en sulfates supérieurs à 20 mg/L. Selon le USEPA (Lu et al., 2006), certains sites de décontamination avec des concentrations en sulfate supérieur à 100 mg/L ont tout de même permis la croissance de *Dehalococcoides Ethenogenes* puisque l'ADN de cette souche bactérienne a été identifié (par PCR). Donc le USEPA (Lu et al., 2006) ne considère pas que des concentrations modérées en sulfates soit une entrave majeure à la croissance de *Dehalococcoides sp.*. Néanmoins plusieurs auteurs considèrent que les sulfates en plus de

démontrer des conditions d'oxydoréduction trop oxydantes (au-dessus de la méthanogénèse) auraient des effets néfastes sur la croissance des bactéries déhalogénatrices en compétitionnant celles-ci pour les donneurs d'électrons (Weidemeier et al. 1998; Moretti, 2005; Lu et al., 2006).

Les nitrates sont aussi à considérer, puisqu'ils peuvent agir comme accepteurs d'électrons dans la dégradation anaérobie. Ceci aurait pour effet de diminuer l'efficacité de la déchloration des composés organiques chlorés en créant une compétition entre les nitrates et les COVC. Moretti (2005) et le USEPA (Lu et al., 2006) considèrent qu'une concentration maximale de 1.0 mg/L est tolérée au-delà de quoi la compétition s'installe. Le AFCEE (2007) considère plutôt le total des nitrites et nitrates. La somme devrait être inférieure à 0.5mg/L pour considérer que la déchloration réductrice se fera efficacement.

2 HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS

Dans le cadre d'une remédiation *in situ*, on voudra tester l'efficacité d'un produit capable d'accélérer la dégradation du PCE et du TCE. Ce projet fait donc appel à une forme d'atténuation naturelle accélérée. L'objectif étant de créer une émulsion qui favorisera la création d'un milieu géochimique propice à la prolifération des bactéries déhalogénatrices (dégradation biologique) et qui contribuera à la dégradation abiotique des contaminants. On voudra donc créer cette émulsion en laboratoire et tester différents intrants de façon individuel et combiné pour bien comprendre l'effet de chaque composé sur la dégradation des COVC. Les intrants et leurs hypothétiques effets sur la décontamination sont traités dans le présent chapitre.

On cherche donc, par le biais de l'émulsion à créer un milieu suffisamment réducteur qui puisse accélérer la croissance des bactéries déhalogénatrices et ce faisant, éviter une stagnation de la dégradation des COVC aux stades du DCE ou du CV. L'on vise une dégradation complète des COVC, ce point est important puisque les dernières étapes de transformation des COVC sont les plus sensibles, à la fois parce que les produits en bout de ligne sont les plus toxiques et parce que la biotransformation est plus lente pour le DCE et plus particulièrement pour le CV.

2.1 Principe de la remédiation in situ des COVC à l'aide d'une émulsion

L'utilisation d'une émulsion confère plusieurs avantages en termes d'efficacité pour la bioremédiation *in situ*. Dans le cas des solvants organiques chlorés, la majorité des contaminants vont se retrouver dans la phase libre ou absorbés dans la matrice de l'aquifère (AFCEE, 2007). Il devient donc important d'augmenter la biodisponibilité des contaminants et l'interaction entre les intrants et les COVC. La phase libre est d'ailleurs considérée comme étant non biodégradable puisque la concentration élevée de contaminant est toxique et non

accessible pour les bactéries (Moretti, 2005; Amos et al., 2008). L'émulsion permet de s'attaquer à la phase libre de la contamination en augmentant la dissolution de celle-ci. De plus, puisque l'émulsion est constituée en partie d'huile, elle a la capacité d'absorber les solvants chlorés lipophiles qui sont dans la phase dissoute agissant ainsi comme une éponge (AFCEE, 2007). En confinant le panache de contamination, on limite les risques de créer un nouveau vecteur de contamination ou d'étendre la contamination par dissolution-advection.

Elle aura aussi pour effet d'augmenter l'affinité et la surface de contact entre les intrants de l'émulsion et les solvants chlorés lipophiles par l'action des surfactants. Deux surfactants sont présents dans l'émulsion soit : un surfactant alimentaire et une saponification composée d'eau, d'huile de soja et d'hydroxyde de sodium (NaOH).

L'émulsion est un agrégat de micelles dispersées dans un liquide colloïdal. C'est-à-dire que les micelles sont dispersées de façon homogène dans le liquide (l'eau dans ce cas-ci). La stabilité du mélange est due à la déprotonation des huiles (saponification) ce qui lui confère une extrémité polaire et hydrophile. Cette extrémité sera en contact avec l'eau alors que la queue hydrophobe et lipophile formera le cœur de la micelle. La figure 2.1 (*Représentation schématique d'une micelle*) illustre la structure d'une micelle.

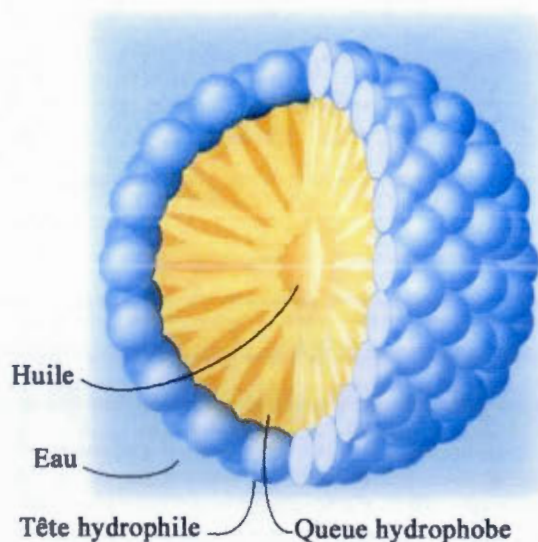


Figure 2.1: Représentation schématique d'une micelle

Tiré de Sbaratto (2005)

On ajoutera aussi un surfactant alimentaire qui confèrera une stabilité supplémentaire, la forme hélicoïdale avec plusieurs têtes lipophiles contribuera à augmenter la stabilité de l'émulsion sur une plus longue période.

En somme, on cherche à créer une émulsion qui augmentera la dissolution des composés pour les rendre accessibles aux bactéries déhalogénatrices et à augmenter la surface de contact entre les catalyseurs (voir section 2.3) et les COVC. Ceci est particulièrement important pour les particules riches en magnétique (voir section 2.3.1) puisque ces particules polaires et hydrophiles doivent se trouver en contact direct avec les COVC pour être efficace, or les COVC sont des composés très hydrophobes et tendent à s'agglomérer.

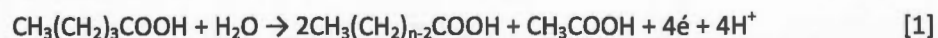
2.2 Les substrats

On voudra utiliser des substrats à libération lente d'hydrogène (slow HRCs) pour avantager les bactéries hydrogénophiles déhalogénatrices. Les différents intrants dans la fabrication de l'émulsion ont donc été choisis en fonction de ce principe. Les substrats vont aussi servir de sources de carbone, essentiel à la croissance bactérienne.

2.2.1 La fraction huile de l'émulsion

L'émulsion finale étant composée à plus de 10% d'huile végétale (huile de soja), elle constitue une source de substrats pour les bactéries déhalogénatrices.

Dans un milieu anaérobique, la dégradation biologique de l'huile végétale (soja) produit de l'hydrogène gazeux selon la réaction suivante (Lalman et Bagley, 2000):



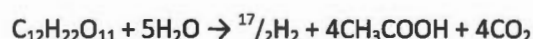
Notons que la saponification (composée en partie d'huile de soja) et le surfactant alimentaire contribuent aussi à la production d'hydrogène gazeux selon le même principe que l'huile de soja, et suivant la même réaction que présentée plus haut.

Mentionnons aussi qu'au même titre que l'émulsion, le petit-lait et l'extrait de levure possèdent des propriétés en tant que surfactant naturel. L'ajout de ces intrants augmenterait la solubilité des solvants organiques chlorés selon plusieurs auteurs (Mora et al., 2008; Macbeth et al., 2006; Major et al., 2002).

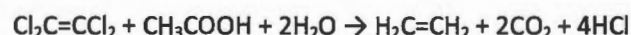
2.2.2 Le petit-lait (lactosérum)

Le petit-lait, qui est un résidu de la fabrication du fromage, est composé à 95% d'eau, 4.2% de lactose, 0.6% de protéines, 0.2% de matière grasse et de sels minéraux. L'utilisation du petit-lait comporte plusieurs avantages. Comme mentionné précédemment, le petit-lait agit comme surfactant naturel (Yang et McCarty, 2002a, 2002b; Major et al., 2002). Macbeth et al. (2006) rapportent que la solubilisation des COVC est augmentée de plusieurs ordres de grandeur avec l'ajout de petit-lait.

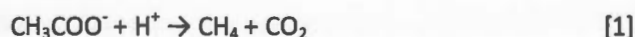
Le petit-lait ne comporte cependant pas que des avantages puisque la grande concentration en sucre (lactose) conduit à une fermentation rapide avec production d'acide acétique ce qui a pour effet de diminuer le pH dans la zone traitée (Mora et al., 2008) selon la réaction suivante (McCarty et al., 2007):



L'acide acétique joue aussi un rôle dans la dégradation partielle ou/et complète de la déchloration des COVC jusqu'à l'éthylène selon He et al. (2003) et Sung et al. (2003) suivant la réaction suivante (McCarty et al., 2007) :



L'utilisation de l'acide acétique en milieu réducteur par les bactéries méthanogènes peut conduire à la production d'une grande quantité de méthane selon la réaction suivante (Bradley et Chapelle, 1999) :



Le petit-lait permet une acclimatation rapide, c'est-à-dire que la création d'un milieu suffisamment réducteur et propice à la dégradation des COVC s'établit très rapidement. Selon une étude de Distefano et al. (2001), l'acclimatation se produit en moins de 10 jours à une dose

stoechiométrique minimum (nombre de moles de chlore = nombre de moles de donneurs d'électrons). Ce produit est aussi très économique, comparativement aux autres substrats fréquemment utilisés, la dose stoechiométrique minimum à injecter pour déchlorer le PCE en sous-produits de dégradation est inférieure de plusieurs ordres de grandeurs (5x plus efficace), ce qui en fait un intrant économique.

2.2.3 Extrait de levure

L'extrait de levure est en majorité composé de protéine et fabriqué à partir d'autolyse de souche de levure, soit *Saccharomyces*. Il constitue un facteur d'enrichissement de nombreux milieux de culture. Il a été établi que l'extrait de levure augmente la solubilité des COVC (Yang et McCarty, 2002a ; Moretti, 2005; Macbeth et al., 2006). L'extrait de levure contribuerait donc à l'atténuation naturelle accélérée par augmentation de la biodisponibilité des contaminants et par biostimulation des souches bactériennes déhalogénatrices (source de carbone).

2.3 Les catalyseurs

Les catalyseurs vont augmenter et faciliter le transfert d'électrons entre les contaminants et les composés organiques chlorés. Il s'agit donc de déchloration abiotique.

2.3.1 Les particules riches en magnétite

Les particules riches en magnétite peuvent dégrader les COVC de façon abiotique avec un contact direct avec ceux-ci. Les particules agissent donc comme catalyseur en produisant de l'hydrogène moléculaire et en facilitant le transfert d'électron pour la réduction des COVC. Pour ce faire, l'émulsion est indispensable puisque le fer ferreux (étant polaire) possède une affinité plus grande pour l'eau que pour les COVC. Il agira aussi comme cofacteur dans la réaction de réduction engendrée par la vitamine B₁₂.

2.3.2 La vitamine B₁₂ (cobalamine)

Comme plusieurs études ont démontré que la dégradation du PCE est accélérée par la vitamine B₁₂ (Dror et al., 2004; McCauley et al., 2005; Kim et Carraway, 2002; Koenig et al., 2012; Lesage et al., 1996; Maymò-Gatell et al., 1995) cet intrant sera testé dans la fabrication de l'émulsion

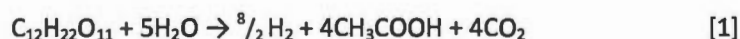
finale. Il est établi que l'activité de déchloration de *D. Ethenogenes sp.* est stimulée par de fortes concentrations de cette vitamine (Maymò-Gatell et al., 1995; Aulenta et al., 2006).

Selon Maymò-Gatell et al. (1995), à partir de 0.05mg/L la déchloration du PCE augmente d'au moins trois ordres de grandeur. Une concentration plus grande n'aurait pas d'effet considérable comparativement à la concentration seuil de 0.05mg/L. Cependant la vitamine B₁₂ est dépendante de la présence de métaux sous forme réduite pour passer de la forme B₁₂Co (III) à la forme réduite B₁₂Co(I), soit la forme la plus efficace pour le transfert d'électron (Kim et Carraway, 2002). Donc des concentrations se rapprochant de 0.05mg/L de B₁₂ devraient permettre une accélération de la déchloration des COVC, surtout en présence de métaux sous forme réduite.

2.4 Le contrôle du pH

Comme la déhalogénéation des COVC conduit à la formation d'acide chlorhydrique, et la dégradation des substrats conduits à la formation d'acide acétique, les problèmes d'acidification du milieu devront être abordés.

La réaction de fermentation du lactose étant:



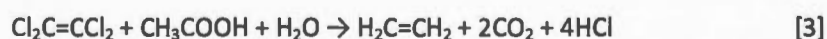
Pour chaque mole de lactose fermentée il y a formation de 4 moles d'acide acétique.

Et la réaction de déhalogénéation du PCE étant :



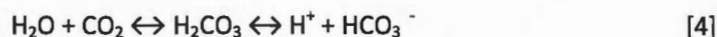
Pour chaque mole de perchloroéthylène dégradé, il y a formation de 4 moles d'acide chlorhydrique.

Et comme mentionné précédemment, l'acide acétique peut dégrader directement le PCE avec formation d'acide chlorhydrique selon la réaction suivante:



Or, dans l'eau souterraine, le pH est généralement dépendant du système dioxyde de carbone/bicarbonate (McCarty et al., 2007). L'augmentation de la pression de CO₂ tend à

pousser la réaction suivante vers la droite et vers une acidification du milieu :



Le contrôle du pH devient donc un enjeu important à la fois pour le maintien de la qualité de l'eau et pour le maintien de conditions propices à la croissance bactérienne. Il est anticipé que les particules riches en magnétite, qui contiennent une proportion importante de minéraux alcalins (voir section 3.1.1 : *particules riches en magnétite*, Chapitre III) aura un effet positif sur ce point. De la même façon, la soude utilisée dans la fabrication de l'émulsion confère un caractère alcalin à cet intrant. Quoi qu'il en soit, le pH sera mesuré tout au long de l'expérimentation.

2.5 Le contrôle des conditions d'oxydoréduction

Le temps d'acclimatation c'est-à-dire la période de temps nécessaire pour que le milieu soit propice à la transformation des COVC est intimement dépendant des conditions d'oxydoréductions (McCauley et al., 2005; DiStefano et al., 2001). On voudra donc fournir des intrants capables de créer un milieu suffisamment réducteur rapidement.

Distefano et al. (2001) nous informent d'ailleurs que le petit-lait est très efficace avec un temps d'acclimatation très rapide (soit 10 jours dans les conditions expérimentales de DiStefano, 2001) comparativement aux autres substrats couramment utilisés.

Les particules riches en magnétites ont aussi des propriétés intéressantes en ce sens, puisque la réaction d'hydrolyse de l'eau produit de l'hydrogène moléculaire qui rendra le milieu plus réducteur selon la réaction suivante :



Un milieu suffisamment réducteur éliminera la compétition pour les donneurs d'électrons (nitrate et de sulfate) en plus d'avantager les bactéries hydrogénotrophes méthanogènes aux dépens des autres bactéries compétitrices.

2.6 Les objectifs

En résumé les objectifs principaux sont :

- Création d'une émulsion enrichie de différents intrants.
- Tester les effets individuels et combinés des intrants sur la décontamination des COVC dans un cas réel de contamination.
- Développer une méthode analytique fiable pour l'analyse des COVC et des sous-produits de dégradation.
- Contrôler les paramètres chimiques et physico-chimiques.

Une fois ces objectifs atteints, l'on devrait être en mesure de mieux comprendre et optimiser un produit capable de créer un milieu propice à la bioremédiation *in situ* des COVC.

3 MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE

3.1 Matériel

3.1.1 Particules riches en magnétite

Les particules riches en magnétite proviennent d'un résidu industriel d'une aciérie de la région de Sorel. Les particules sont recueillies lors de la dernière étape de la fabrication de l'acier lorsque le fer est en fusion et recouvert de laitier, un produit qui sert à créer un surnageant qui isole le fer en fusion de l'atmosphère ambiante. Ces particules sont créées lors de la condensation de la vapeur d'acier en fusion et/ou lorsque les gouttelettes en fusion sont éjectées à l'extérieur des cuves. Une caractérisation rigoureuse de ces particules faite par Bianchi (2009) nous informe des particularités de ces particules. Une analyse par diffractomètre (DRX) révèle une composition minéralogique fortement dominée par les oxydes de fer (79%), soit la magnétite et l'hématite.

Tableau 3.1 : Composition minéralogique des particules contenant la magnétite (analyse au DRX)

Minéraux	Pourcentage
Hématite (Fe_2O_3)	35,1%
Magnétite (Fe_3O_4)	43,9%
Portlandite ($\text{Ca}(\text{OH})_2$)	3,9%
Quartz (SiO_2)	3,7%
Calcite (CaCO_3)	3,4%
$\text{Na}_{12}\text{Al}_{12}\text{Si}_{12}\text{O}_{48} \cdot 27\text{H}_2\text{O}$	2,8%
Anhydrite (CaSO_4)	2,4%
Cryolite (Na_3AlF_6)	2,1%
Pirssonite ($\text{Na}_2\text{Ca}(\text{CO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	2,0%
Gypse ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0,8%

Tiré de Bianchi, 2009

Les particules riches en magnétite ont une composition minéralogique fortement dominée par les oxydes de fer, mais contiennent également des minéraux alcalins caractéristiques du laitier ($\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaCO_3). La composition minéralogique est détaillée dans le tableau 3.1 (*Composition minéralogique des particules contenant la magnétite (analyse au DRX)*).

Les observations au microscope électronique à balayage (MEB) révèlent que les particules sont recouvertes d'une fine couche de minéraux calcaire et sodique qui correspondent à la composition du laitier utilisé dans l'étape finale de fabrication de l'acier. Ceci explique le caractère alcalin des particules riches en magnétite.

L'analyse granulométrique révèle que les particules sont dominées par une granulométrie inférieure à $10\mu\text{m}$ (soit 69.8%) et qu'aucune particule n'excède $135.7\mu\text{m}$. Ce sont donc des particules micro à submicrométrique.

Comme ce résidu industriel est classé dans la catégorie «minier» par le Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs (MDDEP), plusieurs tests environnementaux ont dû être effectués pour s'assurer de l'innocuité de cet intrant sur l'environnement. Les tests environnementaux effectués par Bianchi (2009) ont d'ailleurs révélé que les particules riches en magnétite ne sont pas considérées comme une matière lixiviable au sens de l'article 3 du Règlement sur les matières dangereuses ou le Règlement sur les déchets solides du MDDEP pour l'usage qui en est fait dans le cadre du projet. L'innocuité écotoxicologique reste cependant à être testée.

Dans le cadre du projet les particules riches en magnétite seront surnommées particule DC (pour dépoussiéreur central, où sont recueillies ces particules).

3.1.2 Vitamine B₁₂ (Cobalamine)

La vitamine B₁₂ (cobalamine) provient de chez Sigma Aldrich (no de produit 47869 de Supelco).

3.1.3 Extrait de levure

L'extrait de levure est une gracieuSeté de Deane et Compagnie, division Groulx-Robertson ltd, Pointe-Claire, Qc.

3.1.4 Petit-lait (lactosérum)

Le petit-lait est un sous-produit de la fabrication du fromage. Il est donc considéré comme un résidu industriel et nous a été fourni par l'*Abbaye de St-Benoit du Lac*, Qc. Le petit-lait a été conservé à température ambiante et était partiellement fermenté en acide lactique au moment de commencer l'expérimentation. Le taux d'acide lactique a été déterminé par dosage colorimétrique à la phénolphthaléine. La concentration en acide lactique a été évaluée à 4.49 degrés Dormic. Ce qui correspond à 49.97mM d'acide lactique. Le degré Dormic correspond à l'acidité du lait : 1 degré Dormic correspond à 0.1g/L d'acide lactique même si l'acide lactique n'est pas le seul acide présent.

3.1.5 Émulsion

Il est essentiel de former une émulsion stable qui permette l'incorporation des différents intrants. La première étape de l'émulsion consiste à créer une saponification qui servira de surfactant naturel pour la stabilité de l'émulsion. Cette saponification est obtenue en mélangeant de l'eau du robinet, et de l'huile de soja (huile commerciale de Crisco) après dissolution de la soude (NaOH 50%, de Sigma Aldrich) dans l'eau du robinet.

Ensuite une émulsion de type huile dans eau est obtenue à la suite d'un mélange fait d'eau du robinet, d'huile de soja, de la saponification et du surfactant alimentaire (fécule de pomme de terre commerciale). L'émulsion obtenue conserve sa consistance sur au moins 1an, elle est de couleur crème et de consistance pouvant ressembler à du yaourt. L'émulsion finale est illustrée dans la figure 3.1 (*Illustration de l'émulsion finale*).

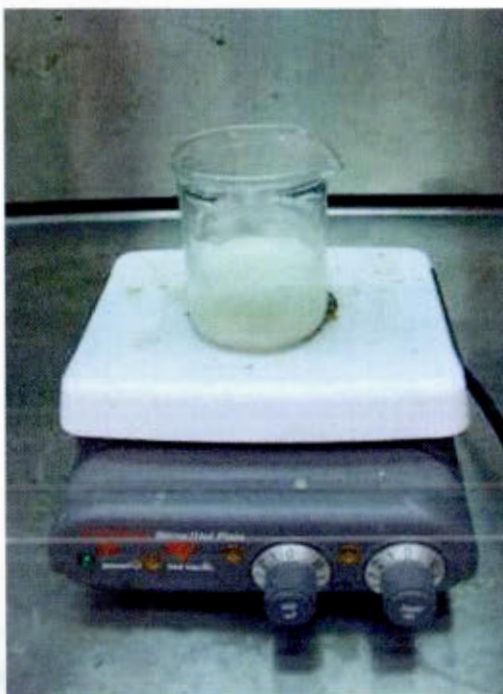


Figure 3.1 : Illustration de l'émulsion finale



Figure 3.2 : Illustration de l'émulsion avec incorporation des particules riches en magnétite

L'ajout d'intrant tel que les particules riches en magnétite a pour effet de liquéfier l'émulsion qui aura davantage la consistance de crème après le brassage. L'émulsion après incorporation des particules riches en magnétite est illustrée dans la figure 3.2 (*Illustration de l'émulsion avec incorporation des particules riches en magnétite*).

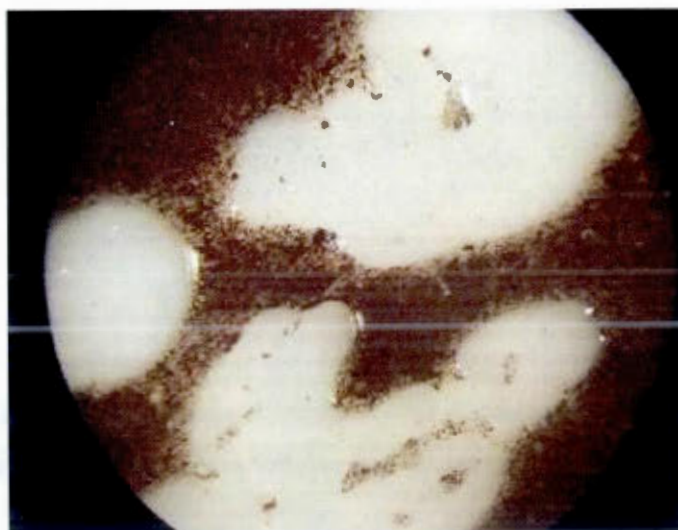


Figure 3.3 : Vue au binoculaire de l'émulsion avec incorporation de particules riches en magnétite (particules DC)

La figure 3.3 (*Vue au binoculaire de l'émulsion avec incorporation de particules riches en magnétite (particules DC)*) illustre le fait que l'émulsion permet de séparer de façon satisfaisante les particules.

3.1.6 Eau contaminée en COVC

L'eau souterraine contaminée a été puisée dans un puits d'observation avec un tube à clapet («bailer») muni d'un embout spécial pour éviter le dégazage des COVC. Le site est localisé sur l'île de Montréal, dans la région de Pointe-Claire et provient d'un déversement accidentel de PCE. Ce site est situé sous les infrastructures d'une usine de produits chimiques. L'eau souterraine sera donc utilisée directement pour évaluer le potentiel d'une atténuation naturelle accélérée par le biais d'une biostimulation.

3.2 Montage des réacteurs

3.2.1 Méthode expérimentale

Toutes les séries de réacteurs sont effectuées en triplicatas pour chaque temps d'analyse. Soit 0, 14, 28, 42, 84 et 168 jours. Comme il y a 9 conditions expérimentales, au total 135 bioréacteurs seront suivis sur une période de six mois. Les concentrations en COVC, en gaz, en nitrate, en sulfate et les conditions de pH et d'oxydoréduction seront suivies et mesurées à chaque temps d'analyse, et ce pour chaque réacteur.

Les réacteurs seront traités de la façon suivante :

- 1) L'émulsion avec intrant ou non est directement introduite dans la bouteille « amber screw cap » de Supelco (no 23235) propre, sèche et autoclavée au préalable.
- 2) Les réacteurs sont ensuite remplis avec 180 ml d'eau contaminée prélevée sur le site de Pointe-Claire. La quantité d'eau est mesurée avec un cylindre gradué (incertitude de 0.5ml). Le réacteur est ensuite fermé avec un bouchon muni d'un septum en téflon et scellé avec du papier paraffine. La quantité d'air introduit dans la bouteille est purgée avec de l'azote gazeux de calibre HPLC de Fisher à raison d'une pression de 20psi pendant 5 minutes. Ceci a pour effet d'imiter les conditions anoxiques prévalentes dans les aquifères. Et assurer la survie des bactéries anaérobiques.
- 3) Les bouteilles sont ensuite inversées 10 fois pour imiter le brassage initial qui résulterait d'une injection dans l'eau souterraine.
- 4) Les bouteilles sont entreposées, tête en bas, dans un incubateur. On limite ainsi la perte de COVC par volatilisation et la perte au travers du bouchon. Elles sont donc maintenues dans le noir à une température de 21 degrés Celsius.

- 5) Les bouteilles sont manipulées minimalement pour répliquer les conditions d'un aquifère.
- 6) Au jour de l'analyse, les bioréacteurs sont remis à l'endroit quelques minutes avant la quantification des COV.
- 7) La concentration en gaz est analysée en priorité, on prélève le gaz directement dans la bouteille avec une seringue «gas tight» au travers du bouchon muni d'un septum. La concentration en COVC est analysée immédiatement après le prélèvement des gaz, toujours sans ouvrir le bouchon.
- 8) Les analyses des concentrations en nitrate et sulfate sont effectuées le jour même
- 9) Les mesures de pH et redox sont effectuées moins de 30 minutes après l'ouverture des bouteilles.

3.2.2 Description des différentes combinaisons (recettes)

Contrôle

Ces bioréacteurs ne contiennent que de l'eau contaminée sans aucun ajout.

Recette A : B₁₂

Ce bioréacteur contient 0.05mg/L de vitamine B₁₂ dans 180 ml d'eau contaminée au COVC.

Recette B : petit-lait

Ces bioréacteurs contiennent 1% (V/V) de petit-lait. Soit 1.8 ml par bioréacteur dans 180 ml d'eau contaminée au COVC. L'acide lactique a été dosé à 0.05mM dans chaque réacteur. L'acide lactique provient du petit-lait lui-même (comme décrit dans la section matériel).

Recette C : extrait de levure

Ces bioréacteurs contiennent des extraits de levure à 20mg/L soit 1.6mg dans 180 ml d'eau contaminée au COVC.

Recette D : particules DC

Ces bioréacteurs contiennent des particules riches en magnétite (particule DC) pour une proportion de 1 pour 1000. Soit 45 mg dans 180 ml d'eau contaminée au COVC.

Recette E : émulsion

Ces bioréacteurs contiennent l'émulsion à 1 pour 1000 soit 135 mg d'émulsion dans 180ml d'eau contaminée au COVC.

Recette F : émulsion + particules DC

Ces bioréacteurs contiennent l'émulsion à laquelle on a incorporé les particules DC (25% poids/poids). Donc chaque bioréacteur contient 180mg d'émulsion avec particules DC ce qui correspond à 135 mg d'émulsion et 45 mg de particules DC. Le tout dans 180 ml d'eau contaminée au COVC.

Recette G : émulsion+ extrait de levure + vitamine B12+ petit-lait

Ces réacteurs contiennent l'émulsion dans une proportion de 1 :1000 (P/P) avec 20 mg/L d'extrait de levure, 0.05 mg/L de vitamine B12 et 1% petit-lait.

Ces bioréacteurs contiennent l'émulsion à laquelle a été incorporé l'extrait de levure. L'extrait de levure a été pesé et ajouté à l'émulsion, et ce individuellement pour chaque réacteur dans le but de limiter les imprécisions. Donc chaque bioréacteur contient 136.6mg d'émulsion et ajout: ce qui correspond à 135 mg d'émulsion et 1.6mg d'extrait de levure (20 mg/L). La vitamine B12 (0.05mg/L) a été ajoutée en pipettant quelques microlitres d'une solution concentrée. Le petit-lait a été ajouté à raison de 1.8ml (1% V/V). Le tout dans 180 ml d'eau contaminée au COVC.

Recette H : Émulsion + extrait de levure + vitamine B12+ petit-lait + particules DC

Ces réacteurs contiennent l'émulsion avec particules DC dans une proportion de 1 :1000 (P/P) avec 20 mg /L d'extrait de levure, 0.05 mg/L de vitamine B12 et 1% petit-lait.

Ces bioréacteurs contiennent l'émulsion à laquelle ont été incorporés les particules DC, et l'extrait de levure. L'extrait de levure a été pesé et ajouté à l'émulsion, et ce individuellement pour chaque bioréacteur dans le but de limiter les imprécisions. Chaque bioréacteur contient 151.6 mg d'émulsion et ajout: ce qui correspond à 135 mg d'émulsion, 45 mg de particules DC, 1.6mg d'extrait de levure (20 mg/L). La vitamine B12 (0.05mg/L) a été ajoutée en pipettant quelques microlitres d'une solution concentrée. Le petit-lait a été ajouté à raison de 1.8ml (1% V/V). Le tout dans 180 ml d'eau contaminée au COVC.

3.3 Méthode analytique

3.3.1 P&T-CPG

L'analyse des concentrations en COVC dans les différents réacteurs se fait à partir d'une chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à un « purge and trap» (P&T). La méthode analytique a été mise au point en suivant les recommandations du guide Ma.400-COV 1.1, édition 2002-12-19, révisée 2008-12-12(1) : *Détermination des composés organiques volatils : Dosage par «Purge and Trap» couplé à un chromatographe en phase gazeuse et à un spectromètre de masse* du Centre d'Expertise en Analyse environnementale du Québec (CEAQ, 2002a, 2002b) et respecte les critères d'acceptabilité du guide.

Les détails sur la mise au point et le respect des critères d'acceptabilités sont présentés dans l'annexe C (*Méthode analytique : Dosage par «Purge and Trap» couplé à une chromatographie en phase gazeuse*). Les concentrations présentées dans la section 4.1 (*Évolution des concentrations en COVC et les sous-produits de dégradation*) sont une moyenne des résultats mesurés pour chaque série et pour chaque temps d'analyse :

- Les composés suivants ont été analysés sur la totalité de la période de l'expérimentation: tétrachloroéthylène, trichloroéthylène, 1,1-dichloroéthylène, 1,2-cis-dichloroéthylène, 1,2-trans-dichloroéthylène, 1,1,1-trichloroéthane, le 1,2-dichloroéthane, le chlorure de vinyle ainsi que le benzène, l'éthylbenzène, le toluène, le xylène (BTEX).
- Dans le cas des composés suivant : benzène, éthylbenzène, toluène et xylène (BTEX), les valeurs obtenues sont peu significatives. Pour ne pas nuire à la compréhension et par souci de concision, ces données sont donc exclues du présent mémoire.
- Seules les valeurs significatives et statistiquement valables sont présentées dans le présent mémoire. Les valeurs qui ne sont pas comptabilisées sont celles qui ont été rejetées en appliquant le « Q Test» (test statistique qui permet d'écarter les données jugées trop éloignées de la moyenne selon un intervalle de confiance de 90%).
- Les résultats sont présentés avec 4 chiffres significatifs.

- Les erreurs présentées dans les graphiques représentent l'écart type.

3.3.2 « Head Space »-CPG

L'analyse des concentrations en gaz dans les différents réacteurs se fait à partir d'une chromatographie en phase gazeuse (CPG) avec un chromatographe de type Star 3400 Cx SERIES de Varian, selon la méthode présentée dans l'annexe D (*Méthode analytique : Chromatographie en phase gazeuse par « head space »*).

La portion gazeuse présente dans les bioréacteurs est analysée par injection directe dans le chromatographe en phase gazeuse et prélevée avec une seringue « gas tight » de Hamilton.

Les détails sur la mise au point et les respects des critères d'acceptabilités sont présentés dans l'annexe D. Cette méthode analytique se veut une méthode semi-quantitative. Les critères d'acceptabilité du document MA.400-COV 1.1 seront tout de même appliqués. On cherche à confirmer ou infirmer la présence de gaz qui résulte de la dégradation des COVC ou des substrats.

Les concentrations présentées dans la partie résultats du Chapitre 4 sont une moyenne des résultats mesurés pour chaque série et pour chaque temps d'analyse.

- Les composés suivants ont été analysés sur la totalité de la période de l'expérimentation : éthane, éthylène, acétylène et méthane.
- Les erreurs présentées dans les graphiques représentent l'écart type.
- Comme les temps de rétention de l'acétylène et de l'éthylène se différencient que par quelques centièmes de seconde, il est impossible dans nos conditions expérimentales de doser les deux composés séparément. Puisque l'acétylène est un gaz très instable et qu'il se transforme en éthylène rapidement, il sera assumé que la concentration en acétylène est nulle. Ce qui n'est pas nécessairement le cas. Il faudra tenir compte du fait que certains résultats peuvent être biaisés pour cette raison.
- Comme l'éthane et l'éthylène sont nécessairement des sous-produits de dégradation

des COVC ils seront présentés sous forme de gaz total en μM dans les graphiques.

3.3.3 Mesure de nitrate, sulfate

Les concentrations en sulfate ont été déterminées par spectrométrie selon la méthode de l'USEPA Sulfaver 4 (Méthode 8051) à l'aide d'un DR 2800 de HACH. La concentration en nitrate a été déterminée par la méthode TNT 835 (Méthode 10206) à l'aide d'un DR 2800 de HACH.

3.3.4 Mesure du pH et potentiel d'oxydoréduction

Le pH et les mesures du potentiel redox ont été effectués avec un multiparamètre, modèle HI 9828 de HANA.

4 RÉSULTATS

4.1 Évolution des concentrations en COVC et les sous-produits de dégradation

La prochaine section décrit l'évolution des concentrations en COVC dans les bioréacteurs pour la durée de l'expérimentation. Les concentrations ont été mesurées selon la méthode de «Purge and Trap» couplé à la chromatographie en phase gazeuse (CPG) décrite dans l'annexe C (*Méthode analytique : Dosage par «Purge and Trap» couplé à une chromatographie en phase gazeuse*). Les concentrations en gaz ont été analysées par CPG-«*Head Space*» selon la méthode décrite dans la l'annexe D (*Méthode analytique : Chromatographie en phase gazeuse par « head space »*). Les résultats sont présentés comme la moyenne des triplicatas pour chaque méthode et temps d'analyses. Certains résultats sont présentés en termes de taux de transformation qui est en fait un rapport stoechiométrique de produit filles sur le total du produit parent (aussi appelé produit mère) et des produits filles pour un laps de temps donné.

Par rapport stoechiométrique on entend : rapport des produits en équivalent molaire.

Par produit parent on entend : le composé à l'origine des produits de dégradation.

Par produit fille on entend : le(s) composé(s) produit par la déchloration du composé parent.

Certains résultats sont présentés en termes de taux de récupération. Par taux de récupération on entend : le total des COVC et produit gazeux (éthylène/éthane) au temps donné sur le total des COVC détectés au temps 0 jour soit 10.91 μM .

Notons que les résultats des réacteurs avec la vitamine B₁₂ (recette A), l'extrait de levure (recette C) et les particules DC (recette D) sans émulsion ne sont pas présentés dans cette section puisque les résultats sont peu significatifs et quasi identiques au contrôle. Par souci de concision, ces résultats sont exclus de la présente section, les tableaux et figures sont toutefois disponibles dans l'annexe A (*Résultats complémentaires*).

4.1.1 Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : Contrôle

Tableau 4.1: Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, contrôle

Composé	jour 0		jour 14		jour 28		jour 42		jour 84		jour 168	
	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type
Chlorure de vinyle	4,640E-02	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
1,1-dichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trans-1,2-dichloroéthylène	1,916E-02	N/A	7,879E-04	1,930E-03	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Cis-1,2-dichloroéthylène	1,754E+00	N/A	7,662E-01	1,049E-01	7,455E-01	1,859E-01	6,095E-01	1,559E-01	2,287E-01	1,245E-01	1,879E-02	2,275E-03
1,1,1-trichloroéthane	2,998E-03	N/A	5,655E-04	4,031E-04	7,543E-04	1,894E-04	5,065E-04	1,554E-04	2,135E-04	3,118E-04	< LD	N/A
1,2-dichloroéthane	2,071E-03	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trichloroéthylène	6,393E-01	N/A	1,129E-01	2,335E-02	1,217E-01	1,329E-02	8,335E-02	2,115E-02	1,477E-02	1,456E-02	< LD	N/A
Tétrachloroéthylène	8,442E+00	N/A	1,027E+00	2,332E-01	1,072E+00	1,043E-01	7,851E-01	1,694E-01	1,580E-01	4,900E-02	1,079E-02	1,019E-03
Éthylène+éthane	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A

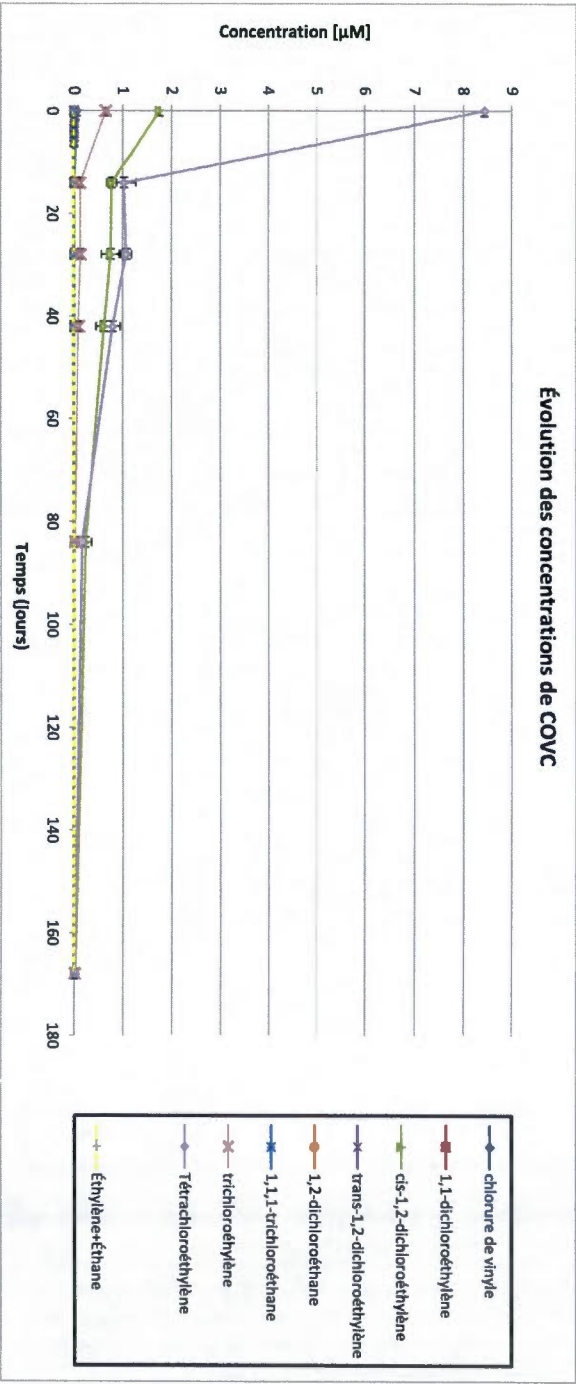


Figure 4.1: Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, contrôle

Le contrôle ne contient que l'eau contaminée aux COVC (tableau 4.1 et graphique 4.1).

Les valeurs des concentrations en COVC semblent diminuées dans les 14 premiers jours de l'expérimentation. Cette diminution apparente est toutefois due à l'absorption des COVC sur les particules fines dans les bioréacteurs et/ou sur les parois des bioréacteurs. La diminution des concentrations en COVC ne peut être due à la décontamination abiotique dans lequel cas on aurait observé l'apparition d'éthylène/éthane dans les premières semaines de l'expérimentation selon l'équation 1 et 2 de la section 1.4.2.2 (*Dichloroélimination ou élimination θ*).

De la même façon, si la diminution des concentrations en COVC avait été due à la décontamination biologique, la diminution de la concentration en PCE aurait été accompagnée d'une augmentation des concentrations en TCE et DCE selon la séquence de déhalogénéation réductive biologique (figure 1.3 : *Séquence de déhalogénéation réductive biologique*).

C'est donc que les concentrations des COVC dissouts diminuent, mais les concentrations totales dans le bioréacteur demeurent relativement stables. Ceci est illustré par le fait que dans les réacteurs contenant l'émulsion (section 4.1.4 ; *Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : Recette F*) et le petit-lait (section 4.1.2; *Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : Recette B*), les rapports stœchiométriques entre les produits parents et filles sont respectés. Dans les réacteurs qui contiennent des surfactants, on voit que la diminution des concentrations des produits parents correspond à l'augmentation des concentrations en produits filles qui sont d'ailleurs plus solubles que le PCE et TCE. Les taux de récupération sont aussi beaucoup plus respectables.

4.1.2 Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : Recette B

Tableau 4.2: Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette B

Composé	jour 0		jour 14		jour 28		jour 42		jour 84		jour 168	
	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type
Chlorure de vinyle	4,640E-02	N/A	1,758E-02	7,032E-03	3,165E-02	2,247E-02	6,297E-01	5,983E-01	4,006E+00	5,667E+00	<LD	N/A
1,1-dichloroéthylène	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	9,965E-03	8,548E-03	<LD	N/A	<LD	N/A
Trans-1,2-dichloroéthylène	1,516E-02	N/A	6,246E-03	3,619E-03	1,347E-02	1,142E-03	1,109E-02	7,047E-03	<LD	N/A	<LD	N/A
Cis-1,2-dichloroéthylène	1,754E+00	N/A	7,808E+00	1,141E+00	1,008E+01	2,016E+00	1,027E+01	9,108E-01	5,531E-02	3,211E-02	1,702E-02	3,418E-03
1,1,1-trichloroéthane	2,998E-03	N/A	7,177E-04	9,121E-05	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
1,2-dichloroéthane	2,021E-03	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Trichloroéthylène	6,393E-01	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Tétrachloroéthylène	8,442E+00	N/A	9,555E-03	7,069E-03	5,834E-04	1,545E-03	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Éthylène-éthane	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	1,610E+00	5,600E-01	1,700E+00	6,100E-01

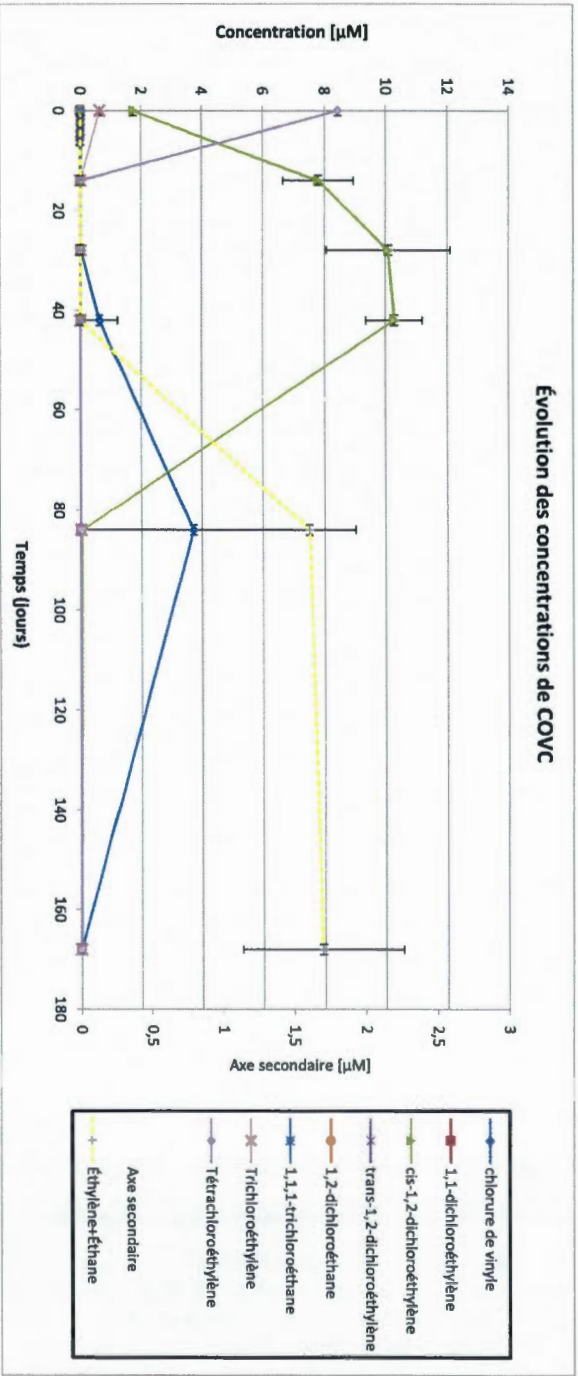


Figure 4.2: Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette B

La recette B ne contient que du petit-lait/lactosérum (tableau 4.2 et figure 4.2).

Au jour 14, la quasi-totalité du PCE et le TCE sont transformés en DCE pour un taux de transformation (produits filles/PCE) de 99.8%. Il ne reste que des traces de PCE ($[0.00956\mu\text{M}]$) et le cis-DCE s'accumule avec une concentration de $7.81\mu\text{M} \pm 1.41$. Le taux de récupération est de 72%.

Au jour 28, la concentration en cis-DCE culmine ($10.08\mu\text{M} \pm 2.02$) et le taux de récupération atteint 106.2%. La dégradation du DCE n'est cependant pas encore entamée puisque l'on ne détecte pas d'éthylène/éthane et la hausse de la concentration en CV n'est pas significative.

Au jour 42, la transformation des contaminants plus chlorés en DCE est complète puisque le total de DCE correspond au total initial de COVC ($10.91\mu\text{M}$) avec une concentration de $10.3\mu\text{M} \pm 0.919$ en cis-DCE et $0.0135\mu\text{M} \pm 0.00705$ en trans-DCE. La transformation du DCE en CV a débuté puisque l'on observe que la concentration en CV passe de moins de $0.032\mu\text{M} \pm 0.0225$ à une concentration de $0.630\mu\text{M} \pm 0.598$. Le taux de transformation produits filles/PCE atteint 100% et le taux de transformation CV/DCE atteint 6.4% avec un taux de récupération de 100%.

Au jour 84, la transformation du CV en éthylène a débuté puisque l'on détecte une concentration considérable d'éthylène/éthane de $1.61\mu\text{M} \pm 0.560$. La totalité des produits chlorés sont au stade du CV ou au-delà, la concentration de CV passe de $0.630\mu\text{M} \pm 0.598$ à une concentration de $3.73\mu\text{M} \pm 5.28$. On ne détecte plus que des traces de cis-DCE ($0.0553\mu\text{M} \pm 0.0321$). Le taux de transformation est difficilement calculable avec un taux de récupération de 52%. Le faible taux de récupération est dû à une production importante de gaz et possiblement à une réduction de l'éthylène/éthane jusqu'au méthane.

Les écarts types importants du tableau et graphique 4.2.1 sont dû à une différence importante entre les vitesses de réaction des trois bioréacteurs. Ceci est surtout vrai au temps 84 jours. Pour cette raison, le tableau 4.3 (*Tableau des concentrations de COVC au temps 84 jours pour les trois réacteurs, recette B*) décortique les différentes concentrations de COVC dans chacun des bioréacteurs au temps 84 jours.

Tableau 4.3: Tableau des concentrations de COVC au temps 84 jours pour les 3 réacteurs, recette B

Composé	Bioréacteur 1		Bioréacteur 2		Bioréacteur 3	
	moyenne [μM]	écart type	moyenne [μM]	écart type	moyenne [μM]	écart type
Chlorure de vinyle	< LD	N/A	1,118E+01	4,376E-01	< LD	N/A
1,1-dichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trans-1,2-dichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Cis-1,2-dichloroéthylène	7,014E-02	1,970E-02	5,531E-02	3,211E-02	6,615E-02	2,295E-02
1,1,1-trichloroéthane	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
1,2-dichloroéthane	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Tétrachloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Éthylène+éthane	1,227E+00	1,345E-02	7,325E-01	1,390E-02	2,140E-01	3,036E-02

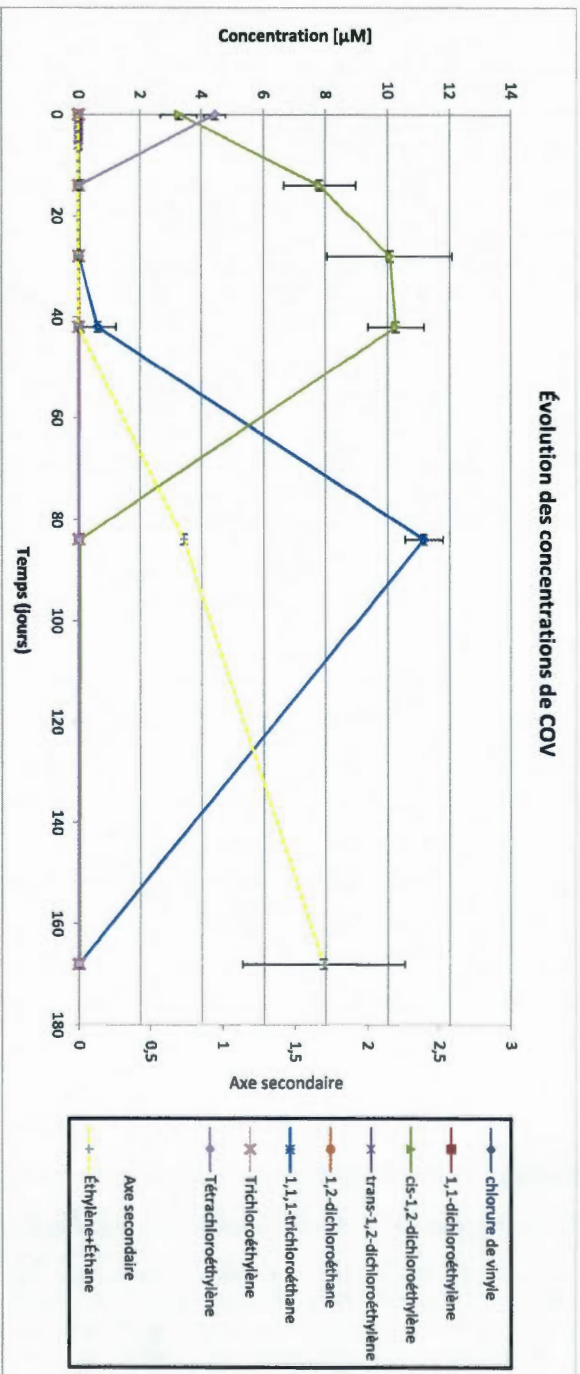


Figure 4.3: Graphique de l'évolution des concentrations de COV en ne considérant que le bioréacteur le plus lent au temps 84 jours, recette B

Le graphique 4.3 (*Graphique de l'évolution des concentrations de COVC en ne considérant que le réacteur le plus lent au temps 84 jours, recette B*) illustre le scénario de décontamination en ne considérant que le réacteur le plus lent au temps 84 jours pour la recette B; 2 des 3 réacteurs (réacteurs 1 et 3) sont dans la phase finale de décontamination (tableau 4.3 : *Tableau des concentrations de COVC au temps 84 jours pour les 3 réacteurs, recette B*), c'est-à-dire que la concentration en cis-DCE se situe sous $0.07\mu\text{M}$, tous les autres contaminants et produits de dégradation se situe sous les limites de détection de l'appareil. Le réacteur 2 est le plus lent des trois et avec une concentration en CV de $11.2\mu\text{M} \pm 0.438$. Cependant, comme l'éthylène /éthane est détectable à raison d'une concentration de $0.733\mu\text{M} \pm 0.0139$, on peut assumer que la transformation du DCE en éthylène/éthane est entamé et que processus de déhalogénéation ne présente aucune évidence de stagnation.

Au jour 168, il n'y a plus de trace de contamination dans l'eau à l'exception du cis-DCE. On peut toujours détecter une concentration de $0.0782\mu\text{M} \pm 0.00342$ de cis-DCE. Ce qui correspond à une concentration de $1.73\mu\text{g/L}$, cette concentration est bien en deçà de la limite dans l'eau potable imposée par Santé Canada de $14\mu\text{g/L}$.

La première chose qui doit être mise en évidence est la capacité du petit-lait à agir en tant que surfactant. Comme mentionner dans la section 4.1 (*Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : Contrôle*), le contrôle démontre une absorption très importante des contaminants. Effet qui n'est pas observé ici. L'efficacité du petit-lait est mise en évidence par la transformation quasi complète du PCE et du TCE en DCE en seulement 14 jours.

Il est probable que la transformation du PCE en DCE a transigé par une transformation en TCE selon une réduction séquentielle biologique. Plusieurs indices pointent dans cette direction.

- 1) La concentration en cis-DCE est 1000 fois plus importante que le trans-DCE.
- 2) La disparition du cis-DCE suivi de l'apparition du CV après un temps de latence est typique de la réduction séquentielle biologique. De la même façon, on peut observer que l'apparition de l'éthylène/éthane est couplée à la disparition du CV.

Cependant le passage du PCE par le TCE n'est pas représenté dans les résultats puisque la dégradation a déjà atteint le stade du DCE.

4.1.3 Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : Recette E

Tableau 4.4: Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette E

Composé	jour 0		jour 14		jour 28		jour 42		jour 84		jour 168	
	moeyenne [µM]	écart type	moeyenne [µM]	écart type	moeyenne [µM]	écart type	moeyenne [µM]	écart type	moeyenne [µM]	écart type	moeyenne [µM]	écart type
Chlorure de vinyle	4,640E-02	N/A	4,427E-02	5,263E-02	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
1,1-dichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trans-1,2-dichloroéthylène	1,916E-02	N/A	1,167E-02	2,001E-03	1,027E-02	9,255E-04	1,094E-02	1,006E-03	3,995E-03	6,709E-03	< LD	N/A
Cis-1,2-dichloroéthylène	1,794E-00	N/A	1,705E-00	2,855E-01	1,855E+00	3,309E-01	1,568E+00	2,695E-01	2,235E+00	5,445E-01	6,618E-01	2,343E-01
1,1,1-trichloroéthane	2,998E-03	N/A	2,228E-03	1,088E-04	1,747E-03	7,343E-04	1,722E-03	1,1913E-01	4,946E-04	4,440E-04	< LD	N/A
1,2-dichloroéthane	2,021E-03	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trichloroéthylène	6,393E-01	N/A	2,978E-01	5,970E-02	3,261E-01	7,240E-02	3,851E-01	1,557E-01	5,052E-01	2,762E-01	1,166E-01	4,420E-02
Tétrachloroéthylène	8,442E+00	N/A	2,615E+00	3,800E-01	2,473E+00	3,657E-01	2,295E+00	2,370E-01	1,581E+00	2,109E-01	1,316E+00	3,317E-01
Éthylène+éthane	< LD	N/A	2,884E-02	1,022E-02	4,080E-02	7,275E-03	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A

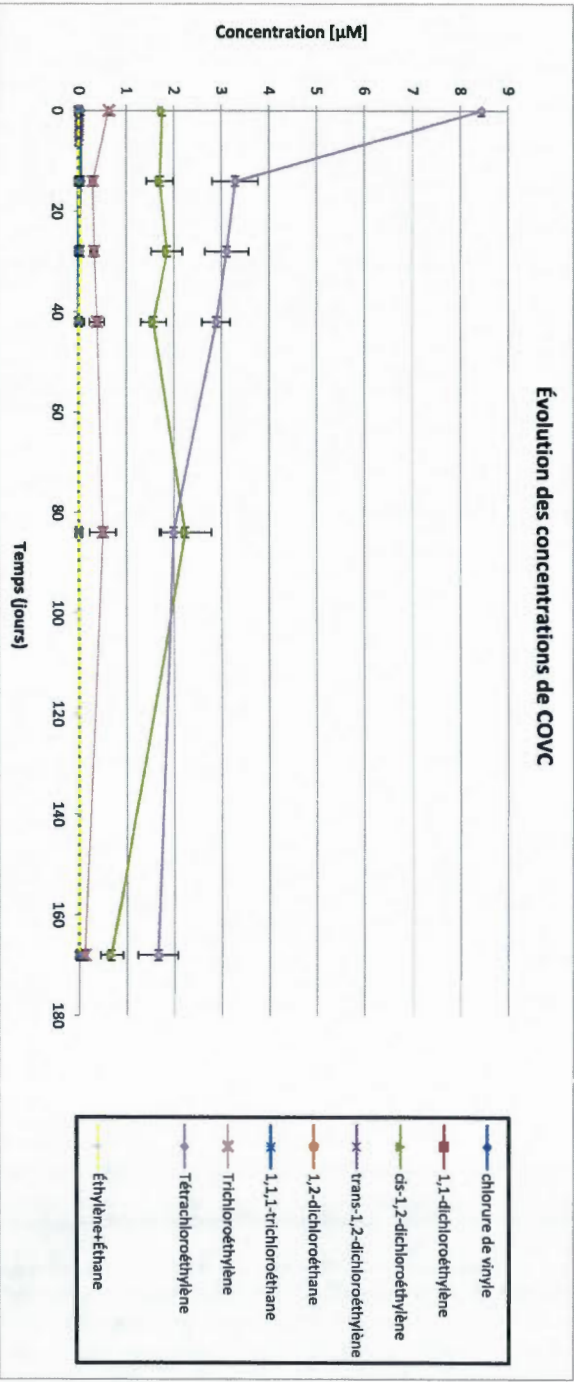


Figure 4.4: Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette E

La recette E ne contient que l'émulsion (tableau 4.4 et graphique 4.4).

La diminution des concentrations en COV entre la période 0 et 14 jours est en toute probabilité due à l'absorption des contaminants tel qu'observé dans la série contrôle. Cependant les concentrations se stabilisent entre les jours 14 et 42.

L'émulsion semble stimuler la dégradation des contaminants entre les jours 42 et 84. Ceci est illustré par le fait que le PCE passe d'une concentration de $2.30 \mu\text{M} \pm 0.237$ au jour 42 à une concentration de $1.58 \mu\text{M} \pm 0.211$ au jour 84. Ce qui correspond à une diminution de 67%. Cette diminution du PCE est couplée à une augmentation du TCE qui passe d'une concentration de $0.385 \mu\text{M} \pm 0.156$ à une concentration de $0.505 \mu\text{M} \pm 0.276$ ce qui correspond à une augmentation de 24%. Le cis-DCE passe d'une concentration de $1.57 \mu\text{M}$ au jour 42 à une concentration de $2.24 \mu\text{M}$ au jour 84 ce qui correspond à une augmentation de 30%. Stoechiométriquement, la diminution de PCE ($0.714 \mu\text{M} \pm 0.224$) correspond aux gains en produit filles (soit $0.787 \mu\text{M} \pm 0.311$, total TCE + cis-DCE) dans la période contenue entre les jours 42 et 84. Les taux de récupération sont cependant très faibles pour les temps d'analyse 42 et 84 jours, soit sous les 40%.

La diminution de la concentration en cis-DCE entre les jours 84 et 168 ne peut cependant pas être attribuée à la réduction séquentielle biologique puisque la transformation du cis-DCE en produit moins chloré implique la production de CV qui n'est pas détecté. Cette diminution du cis-DCE est difficilement attribuable à la déchloration abiotique puisque celle-ci serait accompagnée d'une production d'éthylène/éthane. Ces gaz ne sont pas détectés au jour 168. La perte du cis-DCE peut être expliqué par une absorption sur les particules dans le réacteur de la même façon que les contaminants ont été absorbés dans le réacteur contrôle (section 4.1.1; *Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : Contrôle*).

4.1.4 Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : Recette F

Tableau 4.5: Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette F

Composé	jour 0		jour 14		jour 28		jour 42		jour 84		jour 168	
	mojenne [µM]	écart type	mojenne [µM]	écart type	mojenne [µM]	écart type	mojenne [µM]	écart type	mojenne [µM]	écart type	mojenne [µM]	écart type
Chlore de vinyle	4,540E-02	N/A	< LD	N/A	4,710E-03	1,154E-02	3,400E-03	9,012E-03	< LD	N/A	< LD	N/A
1,1-dichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trans-1,2-dichloroéthylène	1,916E-02	N/A	2,747E-03	5,494E-03	1,202E-02	5,050E-04	7,901E-03	5,706E-03	2,957E-02	4,655E-03	1,361E-02	2,723E-03
Cis-1,2-dichloroéthylène	1,754E-03	N/A	2,155E-03	8,959E-01	1,997E+00	2,742E-01	1,745E-03	1,397E-01	6,740E+00	1,813E+00	1,582E+00	1,868E-01
1,1,1-trichloroéthane	2,998E-03	N/A	1,816E-03	1,353E-05	8,347E-04	1,027E-03	1,905E-03	2,645E-04	1,028E-03	3,439E-04	7,289E-04	3,950E-04
1,2-dichloroéthane	2,021E-03	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trichloroéthylène	6,393E-01	N/A	3,565E-01	1,720E-01	3,441E-01	2,254E-02	4,483E-01	8,445E-02	3,896E-01	3,279E-01	5,141E-01	6,667E-02
Tétrachloroéthylène	8,442E+00	N/A	2,823E+00	1,086E+00	2,955E+00	3,594E-01	3,285E+00	5,052E-01	4,543E-01	4,144E-01	5,630E-01	5,314E-01
Éthylène+éthane	< LD	N/A	1,888E-02	7,188E-04	1,716E-02	8,234E-04	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A

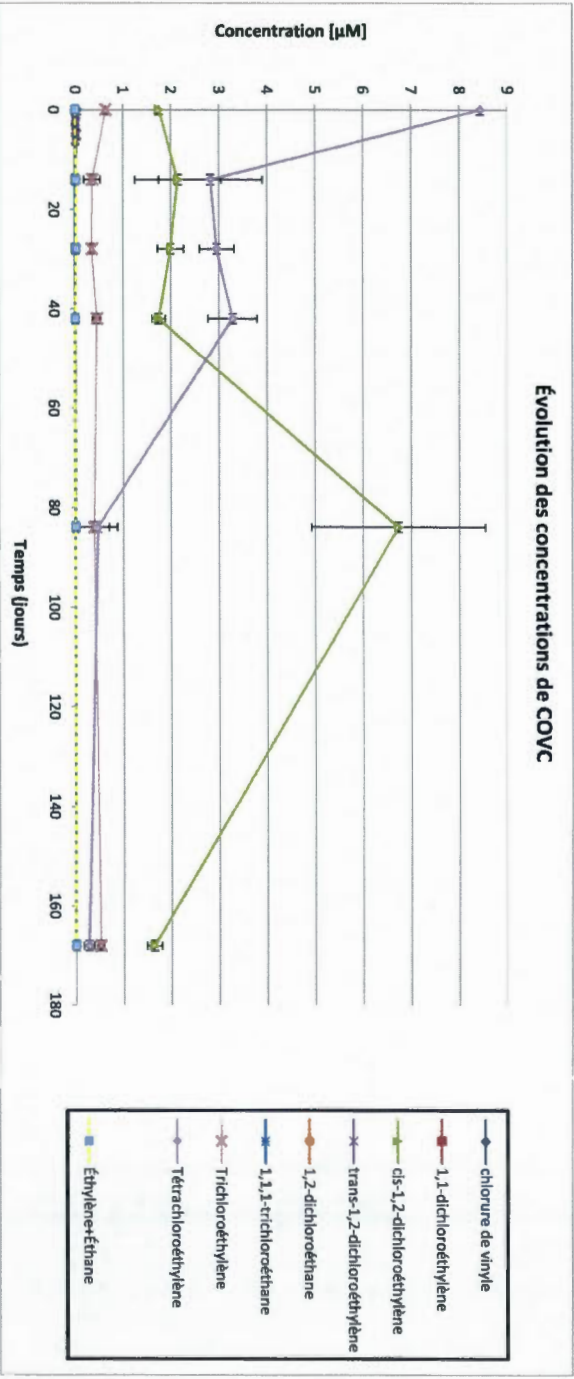


Figure 4.5: Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette F

La recette F contient l'émulsion avec les particules DC (tableau 4.5 et graphique 4.5).

De la même façon que pour la recette E (section 4.3 : *Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : Émulsion*), la diminution des concentrations en COVC entre la période 0 et 14 jours est en toute probabilité due à l'absorption des contaminants tel qu'observé dans la série contrôle.

Cependant, les concentrations se stabilisent entre les jours 14 et 42. On observe très peu de changement dans les concentrations des COVC dans cette période. Les taux de transformation sont nuls.

L'émulsion semble stimuler la dégradation des contaminants entre les jours 42 et 84. Dans cette période de temps le PCE passe d'une concentration de $3.29 \mu\text{M} \pm 0.505$ à une concentration de $0.464 \mu\text{M} \pm 0.414$. Le cis-DCE lui passe d'une concentration de $1.75 \mu\text{M} \pm 0.135$ à $6.74 \mu\text{M} \pm 1.81$.

Ceci correspond à une diminution de $2.82 \mu\text{M} \pm 0.46$ de PCE et à une augmentation de cis-DCE de $4.995 \mu\text{M} \pm 1.09$. La diminution du PCE peut correspondre de façon stoechiométrique seulement si l'on applique l'incertitude négative au cis-DCE et l'incertitude positive au PCE. Quoiqu'il en soit, au jour 84 le rapport des produits filles (TCE+DCE+CV) sur produit parent (PCE) est de 94%. Le taux de récupération est de 76%.

Le TCE lui demeure relativement stable tout au long de l'expérimentation. La stabilité des concentrations en TCE peut s'expliquer par le fait que la formation du cis-DCE passe par la formation du TCE selon la réduction biologique séquentielle. Ceci renouvellerait le « stock » de TCE, mais celui-ci est transformé assez rapidement en cis-DCE.

Les résultats semblent démontrer une stagnation de la déchloration au niveau du DCE puisqu'il n'y a formation d'aucune trace d'éthylène/éthane ou de CV après la période d'accumulation du cis-DCE. La concentration en cis-DCE diminue drastiquement entre les jours 84 et 168. Cependant cette diminution est difficilement attribuable à une déchloration biologique ou abiotique puisqu'il n'y a formation d'aucun sous-produit de dégradation.

Au jour 168 on décèle toujours des concentrations importantes de COVC. Les concentrations en PCE et en cis-DCE se situent toujours au-dessus des normes établit par Santé Canada soit $0.563 \mu\text{M}$ ($93.4 \mu\text{g/L}$) pour le PCE et $1.582 \mu\text{M}$ ($153 \mu\text{g/L}$) pour le cis-DCE.

4.1.5 Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : Recette G

Tableau 4.6: Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette G

Composé	jour 0		jour 14		jour 28		jour 42		jour 84		jour 168	
	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type
Chlorure de vinyle	4,640E-02	N/A	6,587E-02	5,510E-02	1,914E-02	3,940E-02	2,875E-02	3,762E-02	3,644E-00	5,182E-00	1,552E-02	2,704E-02
1,1-dichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trans-1,2-dichloroéthylène	1,916E-02	N/A	1,497E-02	1,071E-02	1,835E-02	1,302E-02	1,151E-02	1,551E-02	N/A	2,521E-03	5,040E-03	N/A
Cis-1,2-dichloroéthylène	1,754E-03	N/A	8,024E-00	2,207E-00	1,097E-01	2,915E-00	1,115E-01	1,197E-00	2,846E-02	2,872E-02	N/A	N/A
1,1,1-trichloroéthane	2,998E-03	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
1,2-dichloroéthane	2,021E-03	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trichloroéthylène	6,393E-01	N/A	1,500E-01	2,124E-01	3,429E-04	4,830E-04	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Tétrachloroéthylène	8,442E-00	N/A	7,082E-01	9,865E-01	2,617E-03	4,730E-03	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Éthylène+Éthane	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	1,651E-00	6,259E-01

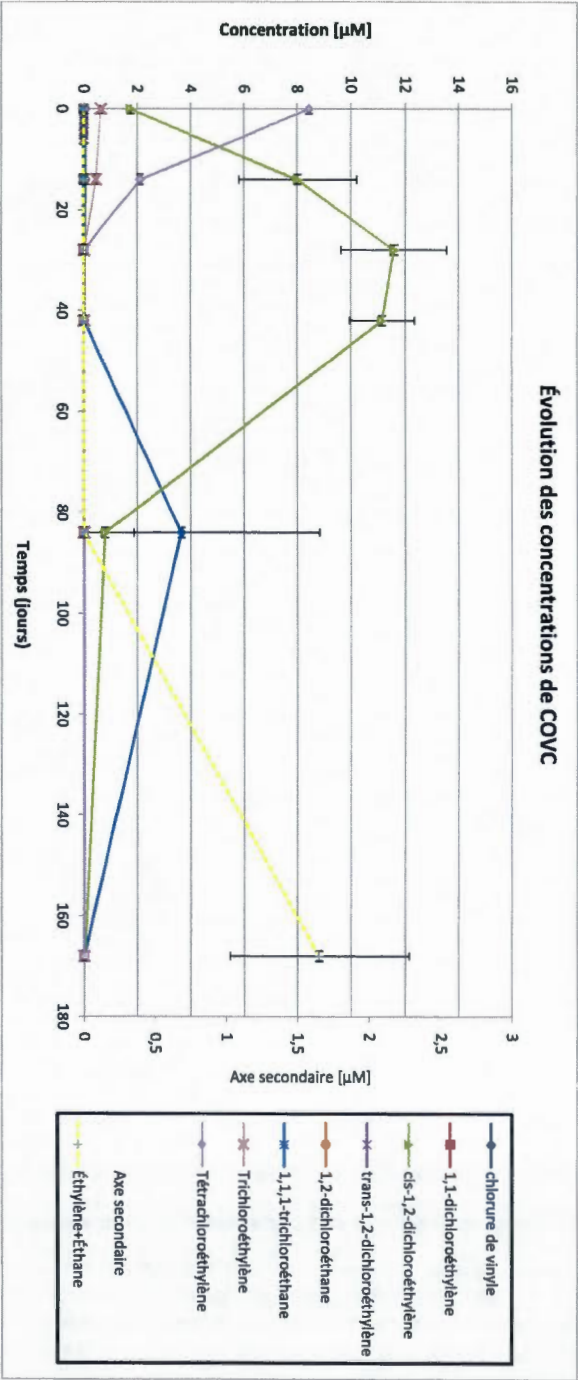


Figure 4.6: Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette G

La recette G contient l'émulsion avec la vitamine B₁₂, l'extrait de levure et le petit-lait (tableau

Au jour 14, la totalité du TCE et du PCE est transformée en cis-DCE dans 2 des trois réacteurs. Cependant un des trois réacteurs montre encore des concentrations assez importantes de TCE et de PCE soit respectivement $0.453 \mu\text{M} \pm 0.0127$ et $2.10 \mu\text{M} \pm 0.0736$. C'est cette différence dans les vitesses de réaction qui explique les incertitudes assez importantes pour ces composés au temps 14 jours.

Néanmoins, au jour 28 tous les composés sont au stade d'accumulation du cis-DCE. Il ne reste que des traces de TCE et de PCE, soit des concentrations de l'ordre du nanomolaire. La concentration en cis-DCE atteint une concentration moyenne de $10.97 \mu\text{M} \pm 2.92$. C'est donc qu'à ce stade tous les composés sont transformés en cis-DCE pour un taux de transformation de 100% (DCE+TCE/PCE). Le taux de récupération est de 82%.

Au jour 42, il ne reste aucune trace de TCE et de PCE. La concentration de cis-DCE reste relativement stable avec une concentration moyenne de $12.75 \mu\text{M} \pm 2.32$. La quantité de CV se situe toujours à des concentrations très faibles soit sous les $0.0288 \mu\text{M}$, ce qui ne représente pas un changement significatif par rapport à la valeur initiale au temps 0 jour. Le taux de récupération se situe à 103%.

Au jour 84, la transformation du cis-DCE vers le CV est toujours en cours dans un des trois réacteurs. La différence dans les vitesses de réaction des trois réacteurs induits des écarts importants dans les lectures des concentrations de COVC, c'est pourquoi la section suivante décortique les concentrations présentent dans les différents réacteurs au temps 84 jours.

Tableau 4.7: Tableau des concentrations en COVC au temps 84 jours pour les 3 réacteurs, recette G

Composé	Bioréacteur 1		Bioréacteur 2		Bioréacteur 3	
	Moyenne [µM]	écart type	Moyenne [µM]	écart type	Moyenne [µM]	écart type
Chlorure de vinyle	1,088E+01	1,428E+00	5,334E-02	5,727E-03	< LD	N/A
1,1-dichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trans-1,2-dichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Cis-1,2-dichloroéthylène	1,992E+00	3,293E-01	6,280E-02	6,886E-03	5,251E-02	1,497E-02
1,1,1-trichloroéthane	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
1,2-dichloroéthane	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Tétrachloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Éthylène+éthane	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A

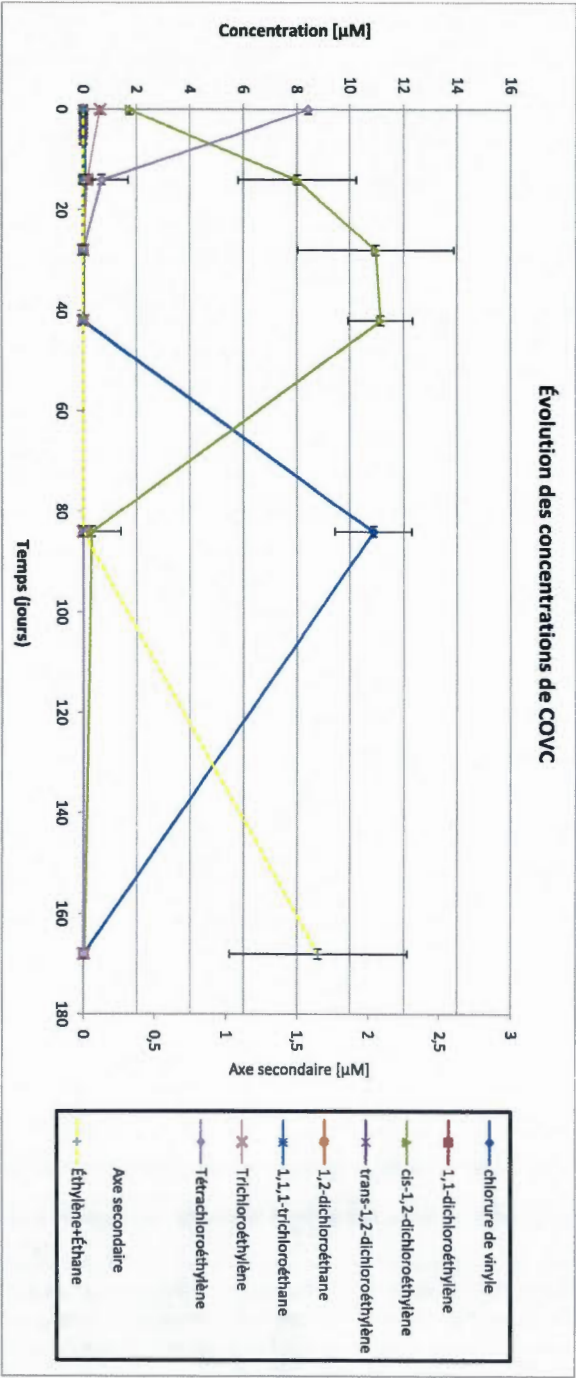


Figure 4.7: Graphique de l'évolution des concentrations en COVC en ne considérant que le réacteur le plus lent au temps 84 jours, recette G

Dans le tableau 4.7 (*Tableau des concentrations en COVC au temps 84 jours pour les 3 réacteurs, recette G*), figure les résultats des trois bioréacteurs au temps 84 jours pour la recette G. Dans deux des trois réacteurs la décontamination est pratiquement achevée. Il ne reste que des traces de cis-DCE, soit des concentrations sous les $0.007\mu\text{M}$. Le CV est présent en trace ($0.0533\mu\text{M}$) dans un seul des réacteurs, ce qui suggère que la déchloration a déjà atteint le stade final avec production d'éthylène/éthane. Cependant dans ces réacteurs les concentrations en éthylène/éthane sont nulles, mais on peut voir une augmentation drastique des concentrations en méthane au jour 84 (se référer au tableau B.1 (*Tableau de compilation de l'évolution des concentrations en gaz dans le temps*) de l'annexe B. Ceci suggère une réduction supplémentaire de l'éthylène/éthane vers le méthane.

Le graphique 4.7 (*Graphique de l'évolution des concentrations de COVC en en considérant que le réacteur le plus lent au temps 84 jours, recette G*) ne tient compte que du réacteur le plus lent au temps 84 jours. Le cis-DCE est toujours détectable à une concentration de $1.99\mu\text{M} \pm 0.329$ et le CV atteint une concentration de $10.88\mu\text{M} \pm 1.42$. Ceci signifie que même le réacteur le plus lent (bioréacteur 1) est à la fin du stade de transformation du cis-DCE en CV.

Au jour 168, il ne reste que des traces détectables de cis-DCE pour une valeur moyenne de $0.00284\mu\text{M} \pm 0.00287$ ($0.275\mu\text{g/L}$), il est indétectable dans 2 des trois réacteurs. Le CV est détectable dans un des trois réacteurs avec une valeur moyenne de 0.0135 ± 0.0270 ($0.843\mu\text{g/L}$). Donc tous les contaminants se situent sous les limites imposées par Santé Canada.

4.1.6 Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : Recette H

Tableau 4.8: Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps, recette H

Composé	jour 0		jour 14		jour 28		jour 42		jour 84		jour 168	
	mojenne [µM]	écart type	mojenne [µM]	écart type	mojenne [µM]	écart type	mojenne [µM]	écart type	mojenne [µM]	écart type	mojenne [µM]	écart type
Chlorure de vinyle	4,640E-02	N/A	4,738E-02	2,209E-03	4,577E-02	5,279E-03	7,233E-01	4,093E-01	2,116E-01	2,632E-01	<LD	N/A
1,1-dichloroéthylène	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Trans-1,2-dichloroéthylène	1,516E-02	N/A	1,113E-02	7,869E-03	1,817E-02	5,594E-03	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Cis-1,2-dichloroéthylène	1,754E-03	N/A	8,474E-03	2,683E-01	9,778E-03	7,423E-01	1,047E-01	1,692E-03	5,728E-02	3,973E-03	1,874E-02	4,427E-03
1,1,1-trichloroéthane	2,998E-03	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
1,2-dichloroéthane	2,021E-03	N/A	<LD	N/A	2,599E-03	1,896E-03	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Trichloroéthylène	6,393E-01	N/A	4,031E-04	2,889E-04	9,920E-03	3,225E-03	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Tétrachloroéthylène	8,442E+00	N/A	1,924E-02	8,161E-03	9,920E-03	3,225E-03	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Éthylène+éthane	<LD	N/A	1,706E-02	1,861E-03	1,579E-02	3,115E-03	N/D	N/D	1,832E+00	7,346E-01	1,714E+00	1,410E-01

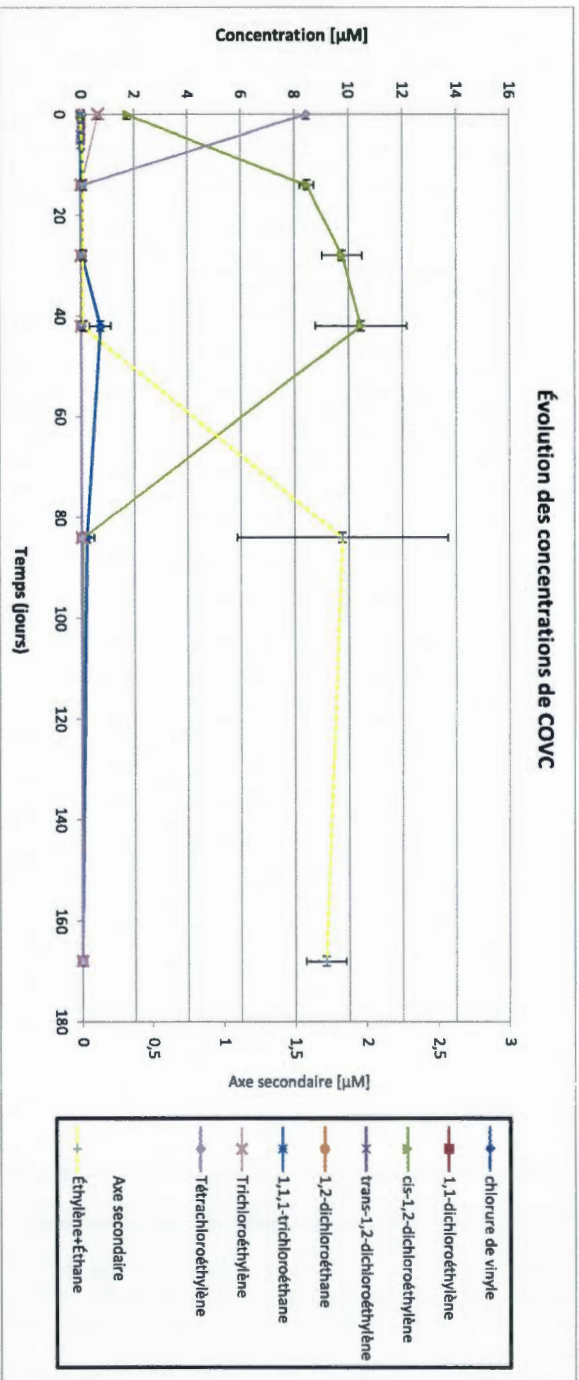


Figure 4.8: Graphique des concentrations de COVC en fonction du temps, recette H

La recette G contient l'émulsion avec la vitamine B₁₂, l'extrait de levure, le petit-lait et les particules DC (tableau 4.8 et graphique 4.8).

Au jour 14, la quasi-totalité des contaminants sont déjà transformés en cis-DCE. La concentration du cis-DCE atteint $8.47 \mu\text{M} \pm 0.268$. Il ne reste que des traces de TCE ($0.00431 \mu\text{M} \pm 0.00289$) et de PCE ($0.0193 \mu\text{M} \pm 0.00816$). Le rapport stoechiométrique des produits filles (TCE+DCE+CV+éthylène/éthane) sur produit parent (PCE) est de 99% avec un taux de récupération de 78.4%. La production d'éthylène/éthane correspond à 0.2% des produits filles. La production de ces gaz à ce stade suggère une dégradation abiotique minime.

Au jour 28, le PCE et le TCE se situent sous les limites de détections de l'appareil. Le cis-DCE culmine avec une concentration de $9.78 \mu\text{M} \pm 0.742$. Le rapport stoechiométrique des produits filles (TCE+DCE+CV+éthylène/éthane) sur produit parent (PCE) est de 1, soit un taux de transformation de 100% avec un taux de récupération de 90.3%. La production d'éthylène/éthane correspond à 0.14% des produits filles. La production de ces gaz à ce stade suggère une dégradation abiotique minime.

Au jour 42, la production de CV est entamée dans tous les réacteurs, mais dans des proportions différentes, on a donc une concentration moyenne de CV de $0.723 \mu\text{M} \pm 0.493$, et une concentration de cis-DCE moyenne de $10.47 \mu\text{M} \pm 0.0573$. Les concentrations en gaz ne sont malheureusement pas disponibles pour ce temps d'analyse. Le taux de transformation (CV/DCE) correspond à 6.9%. Le total des COVC correspond à un taux de récupération de 102.6%.

Au jour 84, on décèle toujours une petite quantité de cis-DCE dans tous les réacteurs pour une concentration moyenne de $0.0573 \mu\text{M} \pm 0.00397$ ($5.55 \mu\text{g/L}$). Somme toute, la décontamination est achevée dans 2 des trois réacteurs puisque le DCE se situe sous la limite fixée par Santé Canada dans l'eau potable. Dans le troisième réacteur, on décèle toujours une concentration supérieure à la norme fixée à $2 \mu\text{g/L}$ pour le CV. Le CV est détectable dans un seul réacteur pour une concentration moyenne de $0.212 \mu\text{M} \pm 0.263$ ($123.2 \mu\text{g/L}$). Le total des COVC correspond à un taux de récupération très faible de 19.3%. Cependant la production d'éthylène/éthane est en cours, il est aussi possible qu'une partie du chlorure de vinyle ait été transformé directement en méthane dans une réaction de méthanogénèse acétoclastique.

Au jour 168, la décontamination est achevée puisque que l'on ne détecte plus que du cis-DCE à raison de $0.0187 \mu\text{M} \pm 0.00443$, ce qui correspond à une concentration de $1.81 \mu\text{g/L}$ ce qui est bien en dessous de la limite fixée par Santé Canada.

La production d'éthylène/éthane est détectable aux jours 84 et 168, mais ne correspond aucunement aux équivalents stoechiométriques. Or la production de méthane augmente drastiquement une fois le début de la transformation du CV en éthylène. Ceci suggère une réduction supplémentaire de l'éthylène et de l'éthane vers le méthane. Ce qui est tout à fait plausible dans le contexte d'un environnement extrêmement réducteur.

4.2 Paramètres physico-chimiques

4.2.1 Évolution du pH dans le temps

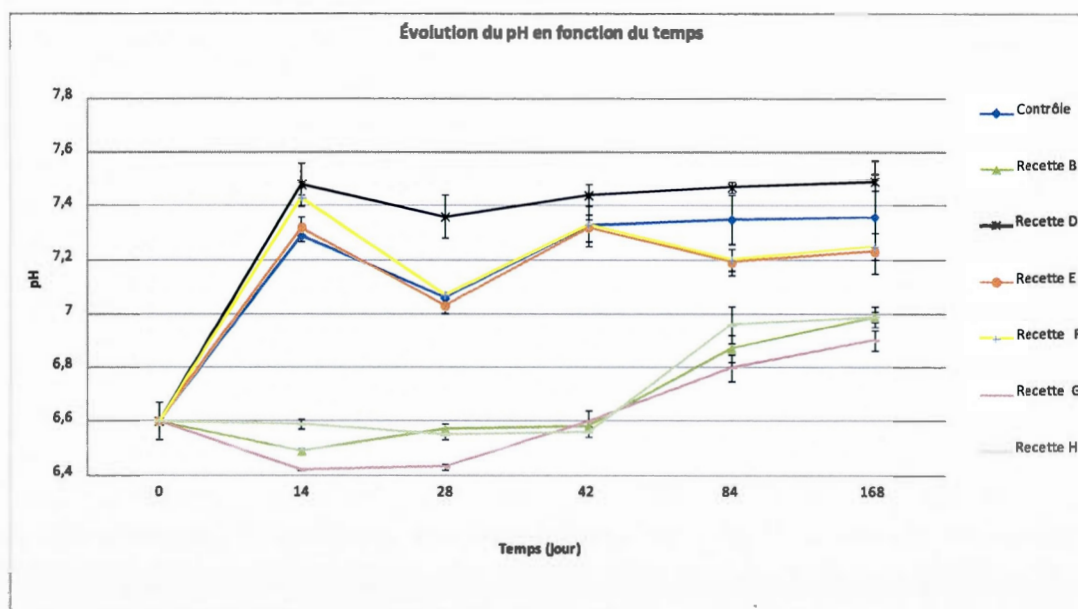


Figure 4.9 : Graphique des valeurs de pH compilées en fonction du temps

Dans le graphique 4.9 (*Graphique des valeurs de pH compilées en fonction du temps*) on observe que le pH le plus élevé est celui qui correspond au réacteur contenant les particules DC (recette D). L'ajout des particules DC fait donc augmenter le pH de 0.69 dès les 14 premiers jours pour ensuite se stabiliser tout au long des 6 mois d'expérimentation.

Tous les réacteurs contenant le petit-lait (recettes B,G et H) possèdent des pH plus faibles que le contrôle. La recette H, qui contient à la fois du petit-lait et des particules DC, est la recette pour laquelle le pH varie le moins parmi les recettes contenant du petit-lait. Le pH ne diminue jamais sous 6.55 et tend vers la neutralité (6.96) après 84 jours. Le pH qui diminue avec l'ajout du petit-lait semble se rétablir et tendre vers la neutralité (pH 7) après 84 jours.

La balance des recettes se situe à des valeurs similaires au contrôle soit la recette E (émulsion) et F (émulsion + DC).

Il est à noter que les recettes A (B_{12}) et C (extrait de levure) ne sont pas représentés dans le graphique puisque les résultats sont très similaires au contrôle. Cette omission facilite la lecture du graphique. Les résultats individuels sont toutefois disponibles dans le tableau B.2 (*Tableau de compilation de l'évolution des valeurs de pH dans le temps*) de l'annexe B (*Tableaux de compilation des résultats*).

4.2.2 Évolution du potentiel d'oxydoréduction dans le temps

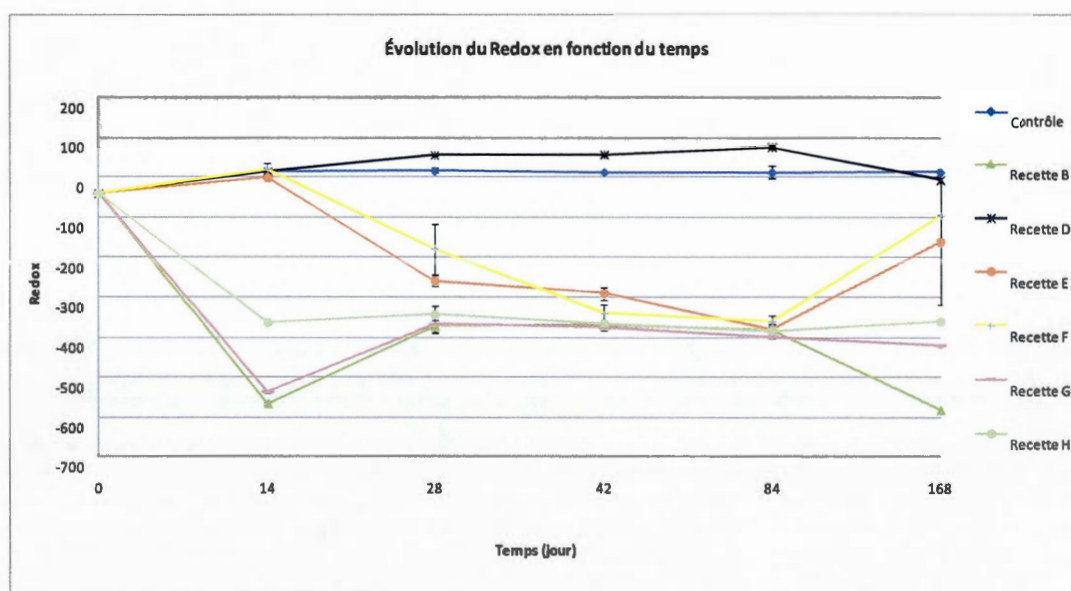


Figure 4.10 : Graphique des valeurs de Redox compilées en fonction du temps

Dans le graphique 4.10 (*Graphique des valeurs de Redox compilées en fonction du temps*) on observe que toutes les recettes qui contiennent le petit-lait sont à des conditions d'oxydoréduction de méthanogénèse dès le jour 14 et demeurent sous les -500 mV tout au long de la période d'expérimentation.

Les recettes E (émulsion) et F (émulsion + particules DC) montrent une légère augmentation des valeurs redox dans les 14 premiers jours, mais au jour 28 la recette E atteint des conditions de méthanogénèse (-258 mV) et la recette F atteint des conditions de réduction du manganèse (-178 mV). Ces deux recettes demeurent ensuite à des conditions de méthanogénèse entre les jours 42 et 84. On remarque cependant une augmentation des valeurs d'oxydoréduction entre les jours 84 et 168.

Cette courbe démontre que l'émulsion prend un certain temps avant d'être utilisée et dégradée par les bactéries, il y a donc un délai de 14 à 28 jours avant la dégradation et l'utilisation des substrats contenus dans l'émulsion. Au jour 168, le redox remonte jusqu'à des conditions de réduction du manganèse. Ceci est illustré à la fois par l'augmentation des concentrations en sulfates (figure 4.12: *Graphique des concentrations compilées des sulfates en fonction du temps*) et par l'augmentation des valeurs de redox (figure 4.10: *Graphique des valeurs de Redox compilées en fonction du temps*). Le manque de substrat et donc l'utilisation complète de l'émulsion peuvent être à l'origine de ce changement dans les conditions d'oxydoréduction.

La recette B qui contient les particules DC montre des résultats très similaires à ceux du contrôle. Ceci est difficilement explicable puisque tous les tests initiaux montrent que les particules DC auraient dû diminuer le redox de plusieurs ordres de grandeur. Il est possible que les particules se soient agglomérées et se faisant n'est eu aucun effet marqué sur les conditions d'oxydoréduction des réacteurs.

Il est à noter que les recettes A (B₁₂) et C (extrait de levure) ne sont pas représentées dans le graphique puisque les résultats sont similaires au contrôle. Cette omission facilite la lecture du graphique. Les résultats individuels sont toutefois disponibles dans le tableau B.5 (*Tableau de compilation de l'évolution des valeurs d'oxydoréduction dans le temps*) de l'annexe B (*Tableaux de compilation des résultats*).

4.2.3 Évolution des concentrations en nitrates dans le temps

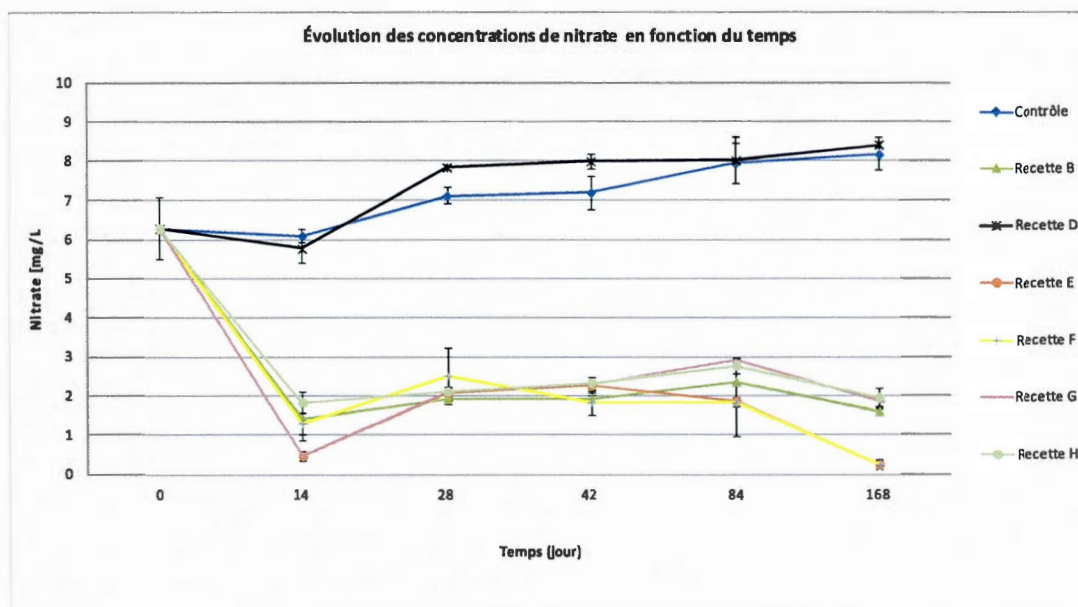


Figure 4.11 : Graphique des concentrations compilées des nitrates en fonction du temps

Dans le graphique 4.11 (*Graphique des concentrations compilées des nitrates en fonction du temps*) on observe que tous les réacteurs à l'exception des réacteurs contrôles et des réacteurs de la série D (contenant les particules DC) maintiennent des concentrations de nitrate sous les 3mg/L.

À la fin de l'expérimentation (jour 168), la concentration en nitrate est de moins de 2mg/L dans tous les réacteurs à l'exception du réacteur contenant les particules DC (recette D) et le contrôle. Les particules DC seules ont peu d'effet sur les conditions d'oxydoréduction.

Il est à noter que les recettes A (B_{12}) et C (extrait de levure) ne sont pas représentées dans le graphique puisque les résultats sont similaires au contrôle. Cette omission facilite la lecture du graphique. Les résultats individuels sont toutefois disponibles dans le tableau B.2 (*Tableau de compilation de l'évolution des concentrations en nitrate dans le temps*) de l'annexe B (*Tableaux de compilation des résultats*).

4.2.4 Évolution des concentrations en sulfate dans le temps

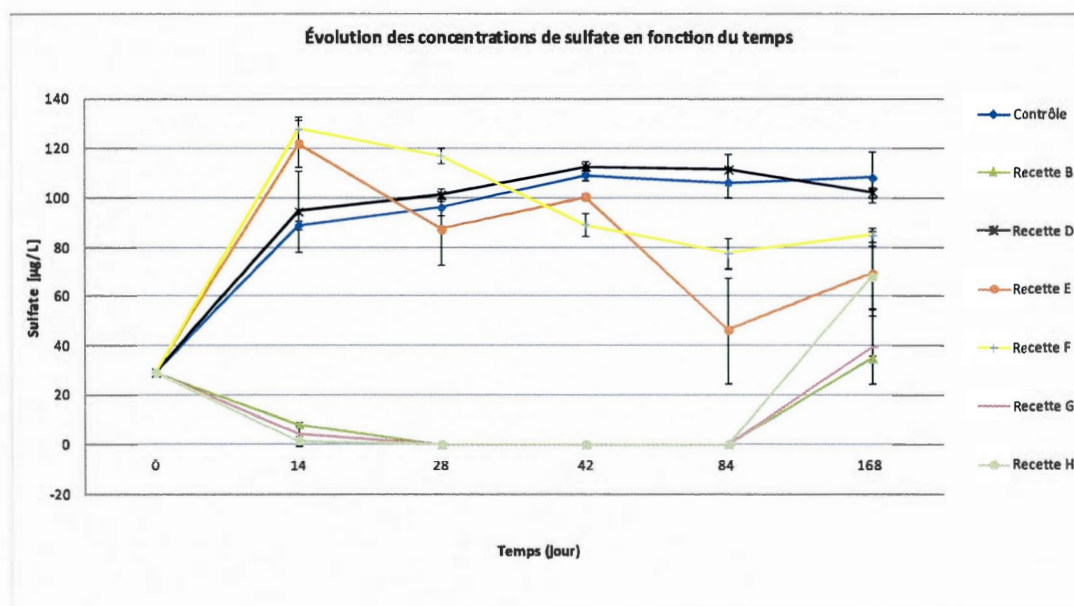


Figure 4.12 : Graphique des concentrations compilées des sulfates en fonction du temps

Dans le graphique 4.12 (*Graphique des concentrations compilées des sulfates en fonction du temps*) on observe que tous les réacteurs qui contiennent du petit-lait montrent une diminution marquée des concentrations en sulfates dès le jour 14. Ces observations concordent avec les données du potentiel d'oxydoréduction (section 4.2.2 : *Évolution du potentiel d'oxydoréduction dans le temps*) qui montrent que ces réacteurs sont déjà à des conditions de méthanogénèses. Cependant, les concentrations en sulfates augmentent drastiquement au jour 168 malgré des valeurs de potentiel d'oxydoréduction sous les -300 mV. Tous les réacteurs qui montrent une augmentation marquée des sulfates au jour 168, sont ceux dont la décontamination est terminée au temps 168 jours. Donc le manque de COVC, qui est rappelons le, le seul accepteur d'électron utilisé par *Dehalococcoïdes sp.* serait potentiellement à l'origine de la mort des bactéries et donc du relargage du sulfate dans les réacteurs.

Les recettes E (émulsion) et F (émulsion + particules DC) suivent sensiblement le même profil, mais encore une fois, l'influence des particules DC aurait pour effet théorique de diminuer le potentiel d'oxydoréduction. Ceci n'est pas observé ici. Dans le même ordre d'idée, la recette D (particules DC seul) aurait dû avoir pour effet de diminuer les valeurs de redox, or cette série montre des résultats quasi identiques à ceux du contrôle.

Il est à noter que les recettes A (B_{12}) et C (extrait de levure) ne sont pas représentées dans le graphique puisque les résultats sont similaires au contrôle. Cette omission facilite la lecture du graphique. Les résultats individuels sont toutefois disponibles dans le tableau B.3 (*Tableau de compilation de l'évolution des concentrations en sulfate dans le temps*) de l'annexe B.

DISCUSSION

Évolution des concentrations en COVC

La première chose à souligner est l'adsorption importante des contaminants dans certains réacteurs. Dans les réacteurs contrôle, qui ne contiennent que l'eau contaminée, la diminution des concentrations des COVC est constante. Ceci pose problème pour la lecture des concentrations en COVC puisque seule l'eau est analysée pour les COVC. La volatilisation des COVC n'est cependant pas en cause puisque dans les réacteurs qui parviennent aux stades de transformation du cis-DCE et du CV, les taux de récupération sont acceptables. Puisque les contaminants les moins chlorés sont plus solubles, leur détection est plus aisée. Les taux de récupération sont plus difficilement calculables dans les stades finaux de transformation puisque l'éthylène et l'éthane semblent subir une réduction supplémentaire vers le méthane. Or le méthane peut être produit par plusieurs processus biologiques et ne peut être pris en compte lors des calculs stoechiométriques. Quoi qu'il en soit, le taux de récupération demeure acceptable dans les séries qui contiennent des surfactants.

Les évidences d'adsorption des COVC, en toute probabilité sur les particules fines dans les réacteurs, sont présentes dans tous les réacteurs qui ne contiennent pas de surfactant naturel. C'est le cas des réacteurs contenant le contrôle, la recette A (B_{12}), la recette C (extrait de levure) et la recette D (particules DC). Ces résultats sont peu significatifs, leur profil d'évolution en ce qui concerne les COVC est très similaire au contrôle. C'est donc dire que de façon individuelle ces intrants n'ont aucun effet positif sur la décontamination, du moins sans la présence de surfactant. On tire toutefois une information essentielle de ce fait, la présence d'un surfactant est essentielle à une décontamination efficace et complète des COVC.

Puisque les problèmes d'adsorption sont assez importants, il devient difficile de calculer le taux de dégradation. Pour cette raison les résultats sont plutôt traités en fonction du taux de transformation des différents composés organiques volatils chlorés. Cette méthode a d'ailleurs été validée par Bradley et Chapelle (2007).

Le petit-lait (lactosérum) semble être très efficace en tant que surfactant naturel. Ces propriétés sont d'ailleurs assez bien connues. Le petit-lait est l'intrant qui possède la plus grande efficacité individuelle. Le petit-lait est en mesure de stimuler la flore bactérienne suffisamment pour que la transformation du PCE et TCE en cis-DCE soit totale, et ce dès le 14^e jour. Dès le 42^e jour la déhalogénéation du cis-DCE est entamée et donc la production de CV et d'éthylène/éthane est détectable. Au jour 84, la transformation du CV vers l'éthylène est entamée dans 1 des 3 réacteurs. Les deux autres réacteurs montrent une accumulation de cis-DCE avec une période de latence typique de la réduction séquentielle biologique. Au jour 168, on ne décèle plus que des traces de cis-DCE (0.0178 μM ou 1.73 $\mu\text{g/L}$) avec une concentration significative en éthylène/éthane (1.70 μM). La décontamination est donc achevée au jour 168 et les concentrations en COVC respectent les normes environnementales dans l'eau potable. La limite dans l'eau potable est fixée par Santé-Canada à 2 $\mu\text{g/L}$ pour le chlorure de vinyle, à 14 $\mu\text{g/L}$ pour de dichloroéthylène, à 5 $\mu\text{g/L}$ pour le trichloroéthylène et à 2 $\mu\text{g/L}$ pour le tétrachloroéthylène. Les premières phases de décontamination par le petit-lait semblent être dominées par des processus biologiques puisqu'il n'y a pas de production d'éthylène avant la phase d'accumulation du CV. L'éthylène/éthane est détectable au jour 84 seulement. La production d'éthylène débute qu'une fois la phase de déhalogénéation du CV enclenchée. Ceci est d'autant plus évident lorsque l'on regarde le tableau 4.3 (*Tableau des concentrations de COVC au temps 84 jours pour les trois réacteurs, recette B*), on voit que l'apparition du CV est couplée à la production d'éthylène/éthane. En observant les concentrations en CV, on voit que dans deux des trois réacteurs, la transformation jusqu'à l'éthylène est achevée, et qu'un seul réacteur contient toujours du CV au jour 84.

Les résultats de la section 4.1.3 (*Résultats de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps : Recette E*) nous démontrent sans aucun doute que l'émulsion est essentielle à la décontamination puisqu'elle désorbe les contaminants en plus de stimuler la croissance des bactéries déhalogénatrices. En comparant les résultats de l'émulsion (section 4.1.3) et du contrôle (section 4.1.1 : *Résultats de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps : Contrôle*), on constate que l'émulsion permet de solubiliser les COVC puisque les concentrations en COVC dans l'eau contaminée sont beaucoup plus importantes dans les réacteurs contenant l'émulsion. Basé sur les calculs stœchiométriques des COVC au jour 14, l'absorption des contaminants est réduite de plus de 19% pour le PCE, de 45 % pour le TCE et de plus de 54 % pour le cis-DCE avec l'ajout de l'émulsion.

La stimulation de la dégradation biologique par l'émulsion est illustrée par l'augmentation significative des concentrations en cis-DCE et la diminution significative des concentrations en PCE au jour 84 (tableau 4.4). Entre les jours 42 et 84, la concentration en cis-DCE passe de 1.57 μM à 2.23 μM . Toujours entre les jours 42 et 84, la concentration en PCE passe de 2.295 μM à 1.581 μM et la concentration en TCE demeure relativement stable avec une concentration qui passe de 0.385 μM à 0.505 μM . La perte en produit mère (perte de PCE) et l'augmentation en produits filles (TCE et DCE) correspondent au profil d'une réduction séquentielle biologique. Le PCE et le TCE sont utilisés préférentiellement, et le DCE est produit par l'entremise de la formation du TCE ce qui explique la légère augmentation en TCE et l'accumulation en DCE. Stoechiométriquement, la perte en PCE ($0.714 \mu\text{M} \pm 0.224$) correspond aux gains en produit filles soit $0.787 \mu\text{M} \pm 0.311$ (total TCE + cis-DCE). La période de latence entre le début de la déhalogénéation, soit une période de 42 jours au minimum, suggère que l'émulsion prend un certain temps avant d'être dégradée et utilisée par les bactéries. La décontamination est cependant incomplète puisqu'au jour 168, des concentrations en PCE, TCE et DCE sont toujours au-dessus des normes fixées par Santé-Canada dans l'eau potable. La concentration de PCE est à 1.316 μM (218 $\mu\text{g/L}$), le TCE à 0.166 μM (15.3 $\mu\text{g/L}$) et le DCE à 0.6818 μM (66.1 $\mu\text{g/L}$). L'absence d'éthylène/éthane et le manque de correspondance stoechiométrique ne nous permettent pas de conclure à une dégradation supplémentaire au jour 168.

En comparant les résultats de la section 4.1.3 (Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : *Recette E (émulsion)*) avec ceux de la section 4.1.4 (Résultats de l'évolution des concentrations en COVC : *Recette F (émulsion + particules DC)*), il est intéressant de noter que l'effet de l'émulsion contenant les particules DC est supérieur aux effets combinés de l'émulsion et des particules DC seules. Les particules DC accélèrent la transformation du PCE jusqu'au cis-DCE. Ces observations sont basées sur le fait qu'au jour 84, la quasi-totalité du PCE et du TCE sont transformé en cis-DCE dans le cas de la recette F (émulsion + particules DC). Au jour 84, dans les réacteurs contenant à la fois l'émulsion et les particules DC, le PCE est à 0.464 μM , le TCE à 0.390 μM et le cis-DCE est à 6.74 μM . Alors que pour la recette E (émulsion), la concentration en PCE est 3.41 fois plus élevée ([1.58 μM]), la concentration en TCE est 1.3 fois plus élevée ([0.5052 μM]) et la concentration en cis-DCE est 3.0 fois moins élevée ([2.24 μM]).

Cependant la décontamination est incomplète au jour 168 pour la recette F (émulsion + DC), puisque l'on décèle toujours du PCE (0.563 μM ou 93.4 $\mu\text{g/L}$), du TCE (1.782 μM ou 234 $\mu\text{g/L}$) et du cis-DCE (1.582 μM ou 153 $\mu\text{g/L}$). La diminution des concentrations en COVC entre les jours 84

et 168 est difficilement attribuable à une réduction séquentielle biologique ou abiotique puisqu'aucune trace d'éthylène/éthane ou de CV n'est décelée dans les dernières séries d'analyses. La déhalogénéation est attribuable surtout à la réduction séquentielle biologique dans cette série de réacteurs. Même s'il était anticipé que les particules DC pourraient être à l'origine d'une partie de la déchloration ceci n'a pas été observées. La réduction abiotique est négligeable.

Si l'on compare les tableaux 4.2 (*Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps : Recette B*) avec le tableau 4-6 (*Tableau des concentrations en COVC dans le temps : Recette G*). On constate que les profils de déhalogénations sont très similaires. Il semble même que la recette qui ne contient que le petit-lait soit légèrement plus efficace que la recette qui contient à la fois l'émulsion, la vitamine B₁₂, l'extrait de levure et le petit-lait. Ceci est mis en évidence par le fait que le chlorure de vinyle est décelable dès le 28^e jour dans le bioréacteur contenant le petit-lait seulement (recette B) alors qu'il faut attendre le 42^e jour pour voir apparaître le chlorure de vinyle dans les réacteurs contenant la recette G. De plus, au jour 84 deux des trois réacteurs contenant la recette B ont déjà complètement transformé le CV en éthylène/éthane alors que pour la recette G, le CV est toujours décelable dans deux des trois réacteurs. On constate aussi que la phase de transformation du CV en éthylène/éthane n'est toujours pas amorcée. En ne considérant que le réacteur le plus lent au temps 84 jours dans les réacteurs qui ne contiennent que le petit-lait (recette B), la concentration en cis-DCE est de 0.0553 µM (7 µg/L) et la concentration en chlorure de vinyle est de 11.2 µM (971.1 µg/L). La production d'éthylène est entamée ce qui démontre que la déhalogénéation du CV est en cours. Toujours au temps 84 jour, dans le réacteur qui contient la recette G, la concentration en cis-DCE est de 1.99 µM (297 µg/L) et la concentration en chlorure de vinyle est de 10.88 µM (1159 µg/L) dans le réacteur le plus lent. C'est donc que la transformation du cis-1,2-dichloroéthylène en chlorure de vinyle est toujours en cours et que le chlorure de vinyle s'accumule. L'absence d'éthylène/éthane montre une stagnation momentanée de la décontamination au stade du CV. Ces résultats nous indiquent que l'extrait de levure et la vitamine B₁₂ sont peu ou pas efficaces dans ces conditions. La recette G demeure cependant très efficace avec un taux de transformation du PCE et TCE en DCE de 100% dès le 42^e jour, la production de CV entre les jours 42 et 84, et une décontamination complétée au jour 168.

Il devient évident en regardant les résultats de la section 4.1.6 (Résultats de l'évolution des

concentrations en COVC : *Recette H (émulsion + B₁₂ + extrait de levure + petit-lait + particules DC)*) que la recette la plus efficace est celle qui contient tous les intrants. Après 84 jours tous les contaminants et produits de dégradation se situent sous les limites recommandées par Santé Canada dans l'eau potable à l'exception du chlorure de vinyle qui se situent à une valeur moyenne de 13.23 µg/L (0.212 µM). Au temps 168 jours, tous les contaminants se situent sous les limites recommandées par Santé Canada. Seul le cis-1,2- dichloroéthylène est toujours décelable à moins de 2 µg/L (0.0187 µM), mais la concentration se situe bien en dessous de la limite de 14 µg/L fixée par Santé Canada.

En comparant les résultats de la recette G (section 4.1.5) qui contient l'émulsion + B₁₂ + extrait de levure + petit-lait, avec ceux de la recette H (section 4.1.6) qui contient l'émulsion + B₁₂ + extrait de levure + petit-lait + particules DC, on peut considérer que l'ajout des particules DC améliore l'efficacité de la décontamination en accélérant la transformation de PCE jusqu'au cis-DCE dans les 14 premiers jours de l'expérience. De la même façon, la transformation du DCE jusqu'à l'éthylène se trouve accélérée. La présence des particules DC limite la stagnation de la déhalogénéation au stade du chlorure de vinyle. Ceci est mis en évidence surtout au temps 84 jours puisque le chlorure de vinyle s'accumule dans les réacteurs sans DC alors que dans les bioréacteurs qui contiennent les particules DC, le chlorure de vinyle se transforme rapidement en éthylène. Cependant, cette augmentation du taux de décontamination dans les derniers stades peut aussi être due à la présence de la vitamine B₁₂. Puisque cette dernière nécessite l'apport de métaux sous leur forme réduite qui agissent en tant que cofacteur pour transformer la vitamine B₁₂ à sa forme la plus active soit B₁₂ (I), la présence des particules DC a pu augmenter son efficacité. Comme la réduction des composés les moins chlorés est plus sensible à la présence de donneurs d'électrons, il est possible que la vitamine B₁₂ ait joué un rôle important dans le transfert des électrons.

En somme, l'utilisation de l'émulsion, du petit-lait et des particules DC sont des éléments essentiels à la fabrication d'un produit pouvant accélérer la décontamination *in situ* du PCE et des sous-produits de dégradation dans l'eau souterraine.

Les réacteurs contenant l'émulsion et le petit-lait, qui agissent tous deux comme surfactant naturel, sont en mesure de désorber convenablement les COVC.

Il faut remettre en question l'utilisation de l'extrait de levure. Cet ajout a été fait dans l'optique de stimuler la croissance des bactéries et d'accélérer la dégradation biologique. La biostimulation n'a pas été observée avec l'ajout de l'extrait de levure. Les résultats de cette série de réacteurs sont d'ailleurs présentés en annexe A (*Résultats complémentaires*) seulement puisque les résultats sont peu significatifs. Il faut cependant mentionner que l'absence de surfactant a pu jouer un rôle puisque les COVC étant absorbés sont moins disponibles pour les bactéries déhalogénatrices.

Il est aussi évident que la décontamination complète a été atteinte avec les recettes B, G et H après 168 jours puisque toutes les concentrations en contaminants et sous-produits de dégradations se trouvent sous les limites recommandées par Santé Canada. La recette H (avec tous les éléments) est la plus efficace en termes de vitesse de décontamination et de transformation des COVC vers la forme non toxique soit l'éthylène/éthane. Il est possible qu'une partie de la déchloration du CV se soit effectuée par méthanogénèse acétoclastique puisque les concentrations en éthylènes/éthanes, bien que détectable ne correspondent pas stoechiométriquement parlant, aux concentrations en CV détectées. De plus il semble y avoir une production simultanée d'éthylène/éthane et de méthane, il faut cependant mentionner que le méthane peut être produit par fermentation de l'acide lactique entre autres.

Dominance de la réduction séquentielle biologique

Le profil de déhalogénéation des réacteurs nous permet de conclure à dominance du mécanisme de réduction séquentielle biologique. Plusieurs éléments nous permettent d'arriver à cette conclusion :

- La réduction du CV en éthylène/éthane nous permet de conclure que la souche *Dehalococcoides* est présente puisqu'il s'agit de la seule souche connue capable de dégrader le CV en éthylène/éthane.
- Les résultats expérimentaux démontrent que la production d'éthylène/éthane est généralement associée au stade final de décontamination après une période d'accumulation du CV. La déhalogénéation du CV est précédée d'une période de latence, ceci est aussi vrai pour les cis-DCE mais dans une moindre mesure. Les périodes d'accumulations de cis-DCE et de CV sont typiques de la réduction séquentielle biologique.

- Le cis-DCE est la forme de DCE dominante dans les réacteurs.
- Le PCE et TCE sont utilisés préférentiellement.

Le potentiel d'oxydoréduction

L'élément avec l'influence la plus marquée sur le potentiel d'oxydoréduction est certainement le petit-lait (recette B). Cet intrant permet une acclimatation très rapide des microorganismes, c'est-à-dire que le processus de déhalogénéation débute très rapidement, soit en moins de 14 jours. Dans tous les réacteurs qui contiennent du petit-lait, le potentiel d'oxydoréduction se situe au niveau de la méthanogénèse dès le jour 14 et le demeure sous les -300 mV tout au long des 168 jours d'expérimentation.

L'effet des particules DC (recette D), riche en magnétite aurait dû en principe influencer d'avantage le potentiel d'oxydoréduction. Mais ceci n'est pas observé puisque les valeurs de la série D suivent le profil de la série contrôle. Le potentiel d'oxydoréduction demeure au niveau des réducteurs de fer^{III} (entre 0 et +100 mV). La quantité utilisée peut être en cause, ou encore la tendance des particules DC à s'agglomérer. La surface de contact entre les particules et l'eau a pu être insuffisante.

Les deux séries qui contiennent que l'émulsion comme substrat montrent le même profil (recette E et F) d'évolution du potentiel d'oxydoréduction dans le temps. C'est-à-dire que le profil est similaire au contrôle pour les 14 premiers jours. Cependant s'en suit une diminution progressive du potentiel d'oxydoréduction entre les jours 14 et 84 jusqu'à atteindre des valeurs sous les -350 mV. Ces données suggèrent que la dégradation de l'émulsion et l'utilisation de celle-ci par les bactéries se produisent après un minimum de 14 jours. Au jour 168, le potentiel remonte, ce qui suggère un manque de substrat et l'utilisation totale de l'huile végétale contenue dans l'émulsion. Ces deux séries n'ont d'ailleurs pas atteint la décontamination totale puisque des concentrations considérables de PCE, TCE et DCE sont encore décelable au temps 168 jours.

Les recettes contenant la vitamine B₁₂ (recette A) et l'extrait de levure (recette C) n'ont aucun effet sur le potentiel d'oxydoréduction et suivent le profil d'évolution du contrôle.

Le pH

La seule recette pour laquelle le pH est plus élevé que pour le contrôle est celle qui ne contient que les particules DC. Ceci s'explique par la concentration relativement élevée en minéraux alcalins contenue dans les particules DC soit 3.9% de Portlandite et 3.4% de Calcite. Le pH demeure entre 7.3 et 7.5 tout au long de la période d'expérimentation, le pH demeure donc dans la plage de confort des bactéries déhalogénatrices tout au long des 168 jours.

Les recettes qui contiennent l'émulsion soit les recettes E (émulsion) et F (émulsion + particules DC) suivent le profil de pH du contrôle. Ceci suggère que l'émulsion tamponnerait l'effet des particules DC.

Les trois recettes qui contiennent le petit-lait suivent sensiblement le même profil d'évolution du pH et montrent une diminution importante du pH comparativement au contrôle dès le jour 14. Ceci est dû à la présence d'acide lactique dans le petit-lait, à la formation d'acide acétique suite à la fermentation des sucres par la flore bactérienne et à la formation d'acide chlorhydrique suite à la déhalogénéation des COVC. Cependant la baisse du pH n'est pas suffisante pour entraver la croissance bactérienne puisque les pH se situent au-dessus 6.4 tout au long de la période d'expérimentation, et ce pour les trois recettes. On remarque qu'au jour 84, les pH tendent à remonter et se rapprocher de la neutralité. Cette augmentation du pH est potentielle dû à la diminution du taux de transformation des COVC puisque les trois séries sont aux stades de transformation du CV en éthylène. On remarque d'ailleurs que la série qui présente le pH le plus élevé (recette H) est celle qui ne contient plus que 0.211. μM de CV alors que les deux autres séries contiennent encore plus de 3.78 μM de COVC (CV + DCE).

Les recettes contenant la vitamine B₁₂ (recette A) et l'extrait de levure (recette C) n'ont aucun effet sur le pH et suivent le profil d'évolution du contrôle.

Les nitrates et sulfates

Comme certains intrants, peuvent devenir une source de nitrate et de sulfate importante, spécialement l'émulsion et le petit-lait, ces deux paramètres ont été mesurés tout au long de l'expérimentation pour s'assurer de ne créer aucune compétition entre ces accepteurs d'électron potentiels et les COVC. Les profils d'évolution des sulfates et nitrates suivent les profils d'évolution du potentiel d'oxydoréduction.

On note que seules les recettes contenant l'émulsion et/ou le petit-lait montrent des résultats différents de ceux du contrôle. Dès le 14^e jour, toutes les recettes contenant l'émulsion et/ou le petit-lait montrent des concentrations en nitrate sous les 2mg/L et demeurent sous les 3 mg/L tout au long de la période d'expérimentation. Donc l'ajout de ces substrats contribue à faire diminuer le potentiel d'oxydoréduction suffisamment pour éliminer la compétition entre les receveurs d'électrons.

En ce qui concerne les sulfates, on note que pour les deux recettes qui contiennent l'émulsion sans le petit-lait, soit la recette E (émulsion) et F (émulsion + particules DC), la concentration en sulfate augmente de plus de 30% comparativement au contrôle entre les temps 0 et 14 jours. Cependant entre les jours 14 et 28, des conditions de réduction des sulfates s'installent. Les conditions de minéralisation des sulfates perdurent jusqu'au jour 84. La légère hausse des concentrations en sulfate au jour 168 concorde avec la hausse des valeurs d'oxydoréduction et dénote encore une fois un manque de substrat.

Tous les réacteurs qui contiennent du petit-lait (recette B,G et H) montrent des conditions de réduction des sulfates dès le jour 14. Ces conditions perdurent jusqu'au jour 84. Cependant on note une augmentation drastique des concentrations en sulfate entre les jours 84 et 168. Cette hausse des concentrations en sulfates est cependant en contradiction avec les valeurs du potentiel d'oxydoréduction qui se situent sous les -300 mV. Or, ces recettes ont toutes atteint une décontamination complète au jour 168. C'est donc qu'il n'y a plus de COVC disponible pour agir en tant que receveur d'électron dans les réactions de déhalogénéation bactériennes. Cette hausse des sulfates est typique d'une mort rapide de la flore bactérienne. La hausse des concentrations en sulfates est donc en toute probabilité due au relargage des sulfates contenus dans les parois cellulaires après la mort de celle-ci.

Pour conclure, voici les faits saillants :

- Les recettes B,G et H ont toutes montrées la capacité d'atteindre une décontamination complète en au plus 168 jours.
- La recette la plus efficace est certainement celle qui contient tous les intrants (recette H). Avec la recette H, la décontamination du PCE, TCE et DCE est complétée après 84 jours et la transformation du CV en éthylène/éthane est complétée à 98%. Au jour 168, la décontamination est complétée.
- La présence du petit-lait permet une acclimatation rapide des bactéries déhalogénatrices, stimule la croissance bactérienne de façon significative et agit comme surfactant.
- L'émulsion permet d'augmenter la surface de contact entre les particules DC et les contaminants tout en étant un surfactant efficace.
- Les particules DC permettent de limiter les périodes de stagnations dans les stades finaux. Il n'est cependant pas clair si la présence de la vitamine B₁₂ agit de façon significative sur la déhalogénéation accélérer des produits moins chlorés (DCE et CV).
- Il faut remettre en question l'utilisation de l'extrait de levure qui ne démontre aucun avantage.
- L'ajout de l'émulsion et du petit-lait ne cause pas de problème de compétition entre les accepteurs d'électrons puisque le potentiel d'oxydoréduction diminue assez rapidement pour favoriser la minéralisation des nitrates et sulfates, et avantager la croissance des bactéries méthanogènes.
- Le contrôle du pH varie surtout une fonction du taux de décontamination et même si l'ajout du petit-lait contribue à abaisser significativement le pH, celui-ci ne se situe à aucun moment sous 6.4 et donc demeure dans la plage de confort des bactéries déhalogénatrices.

CRITIQUE SUR LA MÉTHODE

En utilisant un surfactant puissant au moment de l'analyse, on réduirait la proportion de COVC absorbée sur la matrice. L'utilisation d'une solution telle que le Triton X-100, ajoutée au réacteur avant l'analyse par chromatographie en phase gazeuse (GC-P&T) permettrait une meilleure récupération stoechiométrique et s'en suivrait des calculs de taux de dégradation plus aisés. Il aurait été préférable de tenter de mobiliser les contaminants adsorbés pour obtenir des bilans stoechiométriques plus précis. Un compte bactérien aurait aussi été préférable pour déterminer avec certitude que le relargage des sulfates dans les stades finaux est effectivement dû à au manque de substrat et par conséquent à la mort des bactéries déhalogénatrices.

Il aurait été préférable de coupler la présence des particules DC avec la vitamine B₁₂ dans les réacteurs de la série A, puisque la vitamine B₁₂ est plus efficace sous sa forme réduite. Plusieurs auteurs ont fait la démonstration que les métaux réduits tels que le zinc (Kim et Carraway, 2002) le titane (III) et le chrome (II) (Fritsh et McNeil, 2005; Jung et al., 2007) sont efficace pour transformer la vitamine B₁₂ de sa forme la moins active (B₁₂Co^{III}) à sa forme la plus active (B₁₂Co^I). Et que l'ajout de ces métaux accélère de plusieurs ordres de grandeur l'activité de la vitamine B₁₂. Le fer zéro valent serait trop oxydé pour permettre la réduction de la vitamine B₁₂ à sa forme la plus efficace (Kim et Carraway, 2002).

Des analyses génomiques par PCR pourraient compléter les résultats pour confirmer ou infirmer la présence de souche bactérienne telle que *Dehalococcoides*. Toutefois ces analyses sont coûteuses (Löffler et al., 2000).

Puisque l'acétylène et l'éthylène possèdent des temps de rétention identique, il nous a été impossible de doser séparément ces produits. L'impossibilité de séparer l'acétylène de l'éthylène pose problème pour évaluer le rôle de la déchloration abiotique et induit un facteur d'erreur important dans les valeurs rapportées. La détection de l'acétylène qui est un produit signature de la dégradation abiotique, nous aurait permis de mieux comprendre les mécanismes de dégradation dans les réacteurs.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Ce projet visait à faire avancer les techniques de remédiation *in situ* en réponse à la problématique qui entoure les contaminations aux PCE et TCE. Il s'agissait d'établir une base pour un produit capable d'accélérer efficacement la déchloration réductrice des COVC et de juger de l'efficacité des différents intrants.

Nous avons pu constater que les particules DC, l'émulsion et le petit-lait sont au cœur d'un produit pouvant servir dans le cadre d'un protocole de décontamination *in situ* efficace. L'utilisation des particules DC et du petit-lait est une avenue de valorisation importante pour ces résidus industriels. L'utilisation de ces deux intrants, en plus d'augmenter significativement l'efficacité de l'émulsion, constitue des coûts mineurs dans l'élaboration du produit final.

On doit cependant remettre en question l'utilisation de l'extrait de levure et de la vitamine B₁₂ à la fois parce que leur efficacité n'a pas été démontrée et parce que ces intrants impliquent des coûts supplémentaires dans la fabrication d'un produit pouvant servir dans le contexte d'une remédiation *in situ* des COVC.

Comme la vitamine B₁₂ pourrait être à l'origine de l'accélération de la dégradation des COVC moins chlorés, il serait souhaitable de faire une étude comparative entre une recette qui inclurait l'émulsion + petit-lait + particules DC avec et sans B₁₂. Ceci permettrait de trancher la question à savoir si l'augmentation de la vitesse de dégradation du CV est due aux particules DC directement ou si les particules DC accélèrent la dégradation des stades finaux par l'entremise de la réduction de la vitamine B₁₂.

Finalement, la recette finale devrait faire l'objet d'une étude comparative avec un produit industriel déjà sur le marché afin de vérifier que le produit est compétitif.

La méthode analytique peut être améliorée pour limiter les problèmes d'absorption des COVC telle que l'utilisation d'un surfactant puissant qui limiterait l'absorption des COVC au moment de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. Bien qu'il soit difficile de séparer l'éthylène et l'acétylène par chromatographie, l'élaboration d'une méthode qui permettrait leur

séparation serait d'un grand recours pour la compréhension et la quantification des proportions attribuables à la dégradation biologique et abiotique.

Les problèmes d'adsorption encourue soulèvent un questionnement, puisque les critères de décontamination sont basés sur les concentrations en COVC dans l'eau. Or, il est établi qu'une part importante de la contamination soit adsorbée dans la matrice de l'aquifère. On peut donc obtenir des résultats qui respectent les limites de santé Canada dans l'eau potable sans toutefois tenir compte du fait qu'une concentration importante de contaminant se trouve adsorber sur les sédiments. Un changement dans les conditions de l'aquifère peut faire resurgir des contaminations en apparence sous contrôle. Il est donc recommandé de faire analyser à la fois l'eau potable et les sédiments recueillis idéalement dans les lentilles de sédiment imperméable où les LDNA sont plus probables.

Somme toute, l'ensemble des travaux a permis d'approfondir les connaissances sur les mécanismes impliqués dans la dégradation des COVC et de proposer une base pour un produit très efficace en terme d'accélération des processus de biodégradation, et ce pour un coût modique.

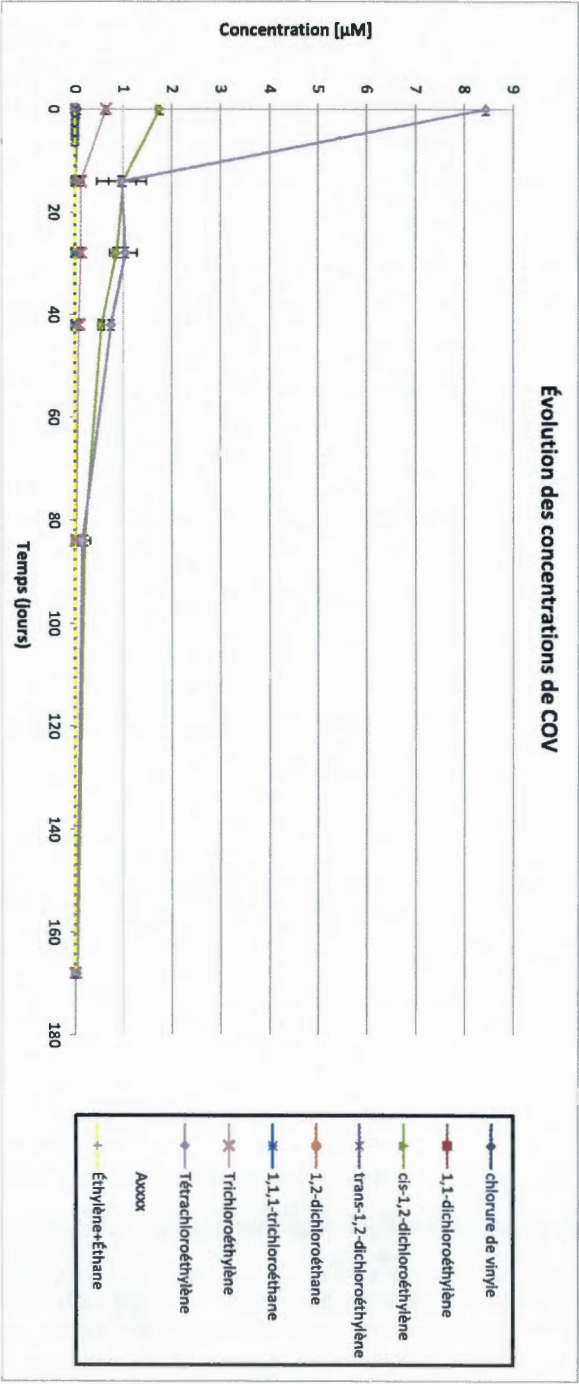
ANNEXE A

RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES

A.1 Résultats de l'évolution des concentrations en COV: Recette A

Tableau A.1: Tableau de l'évolution des concentrations en COV dans le temps

Composé	jour 0		jour 14		jour 28		jour 42		jour 54		jour 168	
	moeyne [µM]	écart type	moeyne [µM]	écart type	moeyne [µM]	écart type	moeyne [µM]	écart type	moeyne [µM]	écart type	moeyne [µM]	écart type
Chlorure de vinyle	4,60E-02	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
1,1-dichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trans-1,2-dichloroéthylène	1,91E-02	N/A	3,64E-03	3,991E-03	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Cis-1,2-dichloroéthylène	1,794E-00	N/A	9,917E-01	2,807E-01	8,686E-01	1,388E-01	5,486E-01	5,534E-02	1,889E-01	1,232E-01	4,037E-02	4,688E-03
1,1,1-trichloroéthane	2,998E-03	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
1,2-dichloroéthane	2,021E-03	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trichloroéthylène	6,393E-01	N/A	1,160E-01	5,955E-02	1,242E-01	3,048E-02	8,213E-02	4,501E-03	1,413E-02	1,031E-02	< LD	N/A
Tétrachloroéthylène	8,442E+00	N/A	9,647E-01	5,006E-01	1,035E+00	2,527E-01	7,538E-01	2,996E-02	1,479E-01	4,388E-02	1,994E-02	1,278E-03
Éthylène+éthane	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A

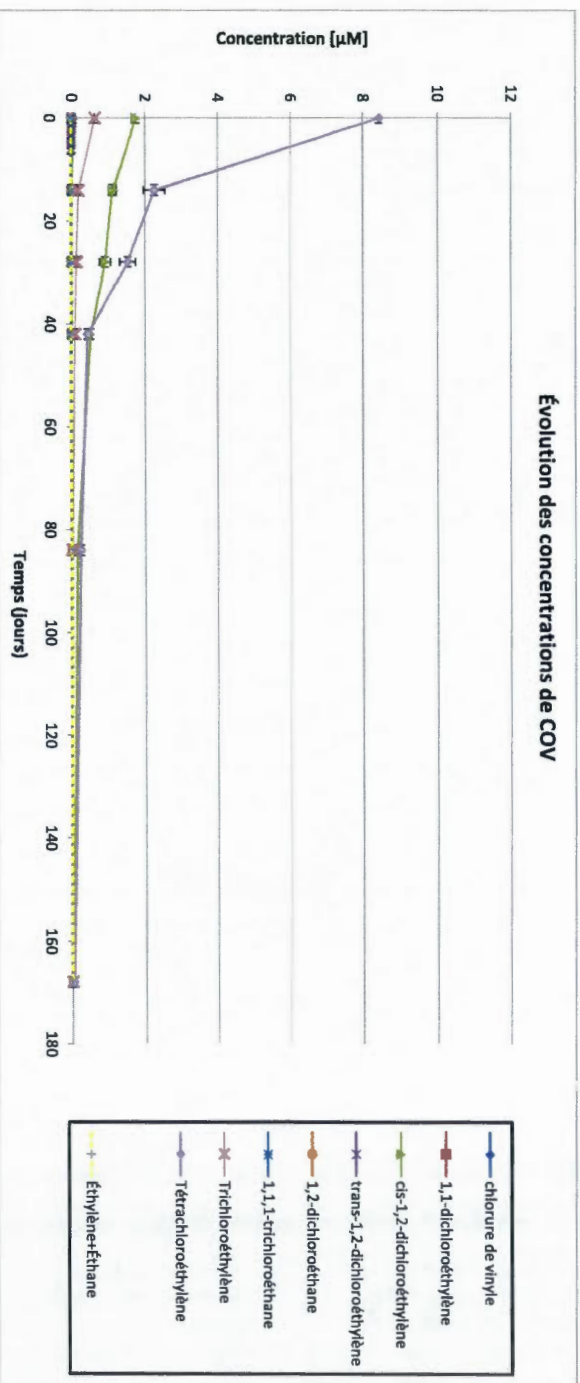


Graphique A.1: Graphique des concentrations de COC en fonction du temps

A.2 Résultats de l'évolution des concentrations en COVC: Recette C

Tableau A.2: Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps

Composé	jour 0		jour 14		jour 28		jour 42		jour 84		jour 168	
	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type	moyenne [µM]	écart type
Chlorure de vinyle	4,640E-02	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
1,1-dichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trans-1,2-dichloroéthylène	1,516E-02	N/A	7,293E-03	7,657E-04	3,472E-03	3,502E-03	3,628E-03	2,646E-04	< LD	N/A	< LD	N/A
Cis-1,2-dichloroéthylène	1,754E+00	N/A	1,123E+00	9,802E-02	9,234E-01	1,545E-01	5,168E-01	4,053E-02	1,608E-01	3,453E-02	3,072E-02	6,139E-03
1,1,1-trichloroéthane	2,998E-03	N/A	1,292E-03	1,399E-04	9,916E-04	1,925E-04	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
1,2-dichloroéthane	2,021E-03	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trichloroéthylène	6,393E-01	N/A	1,864E-01	2,919E-02	1,319E-01	1,567E-02	8,709E-02	8,040E-03	1,781E-02	4,085E-03	< LD	N/A
Tétrachloroéthylène	8,442E+00	N/A	1,786E+00	2,363E-01	1,215E+00	1,759E-01	8,334E-01	8,240E-02	1,920E-01	2,807E-02	6,236E-03	N/A
Éthylène+éthane	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A



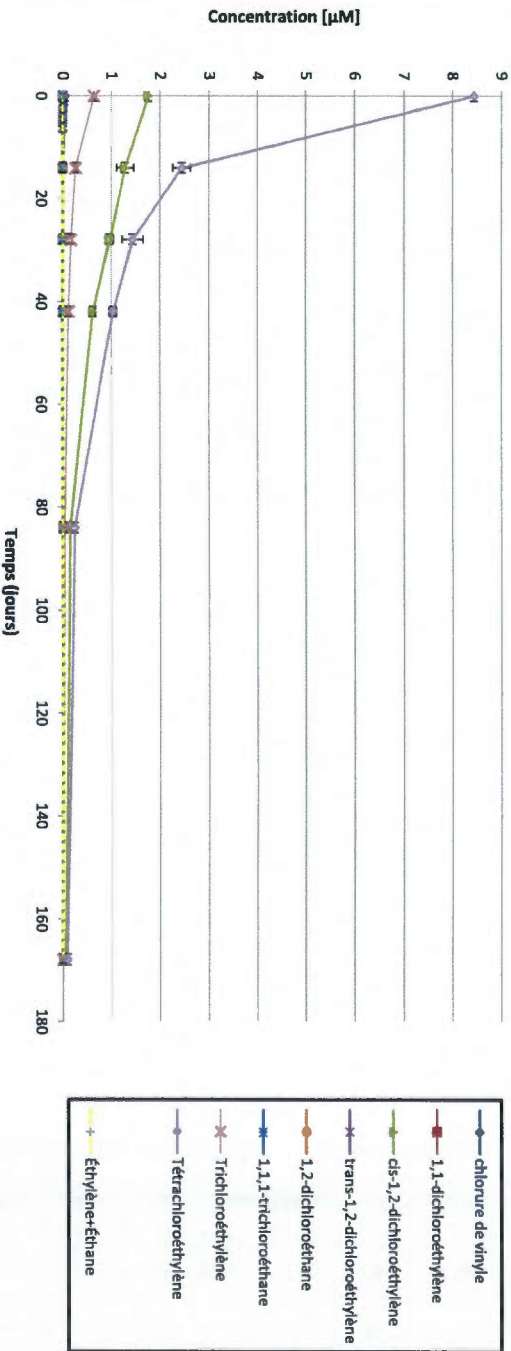
Graphique A.2 : Graphique des concentrations de COC en fonction du temps

A.3 Résultats de l'évolution des concentrations en COVC: Recette D

Tableau A.3: Tableau de l'évolution des concentrations en COVC dans le temps

Composé	jour 0		jour 14		jour 28		jour 42		jour 84		jour 168	
	moyenne [µM]	écart type	moyenne[µM]	écart type	moyenne[µM]	écart type	moyenne[µM]	écart type	moyenne[µM]	écart type	moyenne[µM]	écart type
Chlorure de vinyle	4,64E-02	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
1,1-dichloroéthylène	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trans-1,2-dichloroéthylène	1,91E-02	N/A	8,45E-03	9,76E-04	2,35E-03	2,35E-03	4,09E-03	1,11E-04	< LD	N/A	< LD	N/A
Cis-1,2-dichloroéthylène	1,75E+00	N/A	1,28E+00	1,80E-01	9,65E-01	7,93E-02	6,18E-01	4,82E-02	1,46E-01	6,89E-02	5,21E-02	1,33E-02
1,1,1-trichloroéthane	2,29E-03	N/A	1,00E-03	7,18E-04	9,87E-04	1,12E-04	5,85E-04	2,95E-04	< LD	N/A	< LD	N/A
1,2-dichloroéthane	2,02E-03	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A	< LD	N/A
Trichloroéthylène	6,39E-01	N/A	2,61E-01	2,71E-02	1,64E-01	2,28E-02	1,09E-01	8,39E-03	2,97E-02	1,62E-02	8,85E-04	1,77E-03
Tétrachloroéthylène	8,44E+00	N/A	2,43E+00	1,84E-01	1,43E+00	2,12E-01	1,03E+00	7,35E-02	2,40E-01	3,53E-02	8,65E-02	8,80E-03
Éthylène-éthane	< LD	N/A	5,06E-03	1,83E-03	1,17E-03	1,65E-03	9,97E-04	1,41E-03	< LD	N/A	< LD	N/A

Évolution des concentrations de COV



Graphique A.3 : Graphique des concentrations de COC en fonction du temps

ANNEXE B

TABLEAUX DE COMPILATION DES RÉSULTATS

Tableau B.1 : Tableau de compilation de l'évolution des concentrations en gaz dans le temps

Série	Gaz	Jour 0		Jour 14		Jour 28		Jour 42		Jour 84		Jour 168	
		[µg/L]	écart type	[µg/L]	écart type	[µg/L]	écart type	[µg/L]	écart type	[µg/L]	écart type	[µg/L]	écart type
Contrôle	méthane	1,06	0,04	0,35	0,02	0,36	0,01	54,55	0,80	<LD	N/A	<LD	N/A
	éthylène/acétylène	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
	éthane	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Recette A	méthane	1,06	0,04	0,31	0,02	0,41	0,05	0,54	0,01	<LD	N/A	<LD	N/A
	éthylène/acétylène	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
	éthane	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Recette B	méthane	1,06	0,04	5,37	0,86	605,48	0,11	4572,27	2248,07	20302,69	11599,86	33046,52	8486,56
	éthylène/acétylène	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	20,60	16,39	15,31	15,00
	éthane	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	26,43	16,03	34,59	20,74
Recette C	méthane	1,06	0,04	0,30	0,02	0,34	0,01	0,88	0,27	<LD	N/A	<LD	N/A
	éthylène/acétylène	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
	éthane	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Recette D	méthane	1,06	0,04	0,32	0,03	0,36	0,04	0,68	0,08	<LD	N/A	<LD	N/A
	éthylène/acétylène	<LD	N/A	0,14	0,05	0,03	0,05	0,03	0,04	<LD	N/A	<LD	N/A
	éthane	<LD	N/A	0,00	0,00	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Recette E	méthane	1,06	0,04	0,26	0,08	0,28	0,09	6,45	0,25	0,52	0,73	<LD	N/A
	éthylène/acétylène	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
	éthane	<LD	N/A	0,87	0,31	1,23	0,22	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Recette F	méthane	1,06	0,00	0,24	0,00	0,28	0,03	0,85	0,22	15,72	9,58	5,75	4,94
	éthylène/acétylène	<LD	N/A	0,53	0,02	0,48	0,02	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
	éthane	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A
Recette G	méthane	1,06	0,00	4,78	0,48	1520,03	1233,36	9299,48	4287,71	64704,06	23122,90	81082,67	2101,61
	éthylène/acétylène	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	20,63	14,80
	éthane	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	N/A	27,52	21,77
Recette H	méthane	1,06	0,00	6,46	1,32	919,90	396,06	N/D	N/A	110054,90	40386,44	69306,80	12367,90
	éthylène/acétylène	<LD	N/A	0,48	0,10	0,39	0,18	N/D	N/A	27,92	19,96	<LD	N/A
	éthane	<LD	N/A	<LD	N/A	<LD	0,00	N/D	N/A	25,16	22,78	51,54	8,48

< LD : sous la limite de détection

N/A : non applicable

N/D : non disponible

Tableau B.2 : Tableau de compilation de l'évolution des concentrations en nitrate dans le temps

Série	Jour 0		Jour 14		Jour 28		Jour 42		Jour 84		Jour 168	
	[Nitrate] mg/L	écart type	[Nitrate] mg/L	écart type	[Nitrate] mg/L	écart type	[Nitrate] mg/L	écart type	[Nitrate] mg/L	écart type	[Nitrate] mg/L	écart type
Contrôle	0,63	0,08	6,11	0,16	7,13	0,21	2,34	0,06	7,55	0,51	8,18	0,42
Recette A	0,63	0,08	7,44	0,05	7,39	0,12	7,59	0,21	8,32	0,14	7,66	0,03
Recette B	0,63	0,08	1,42	0,40	1,92	0,06	1,94	0,08	2,37	0,41	1,62	0,06
Recette C	0,63	0,08	1,34	0,50	2,58	0,10	3,21	0,32	4,89	0,39	4,91	0,32
Recette D	0,63	0,08	5,77	0,37	7,83	0,07	7,99	0,20	8,01	0,59	8,41	0,09
Recette E	0,63	0,08	0,47	0,13	2,08	0,17	2,27	0,13	1,87	0,89	0,24	0,11
Recette F	0,63	0,08	1,31	0,45	2,52	0,73	1,85	0,32	1,84	0,11	0,26	0,12
Recette G	0,63	0,08	0,47	0,13	2,12	0,08	2,29	0,19	2,91	0,06	1,86	0,14
Recette H	0,63	0,08	1,85	0,27	7,41	0,20	2,34	0,06	2,78	0,20	1,97	0,24

Tableau B.3 : Tableau de compilation de l'évolution des concentrations en sulfate dans le temps

[illegible]

Tableau B.4 : Tableau de compilation de l'évolution des valeurs de pH dans le temps

Série	Jour 0		Jour 14		Jour 28		Jour 42		Jour 84		Jour 168	
	pH	écart type	pH	écart type	pH	écart type	pH	écart type	pH	écart type	pH	écart type
Contrôle	6,60	0,07	7,29	0,02	7,06	0,02	6,56	0,02	7,35	0,09	7,29	0,21
Recette A	6,60	0,07	7,32	0,07	7,20	0,04	7,36	0,02	7,49	0,02	7,55	0,03
Recette B	6,60	0,07	6,49	0,01	6,57	0,02	6,58	0,02	6,87	0,05	6,99	0,04
Recette C	6,60	0,07	7,37	0,02	7,24	0,04	7,29	0,04	7,51	0,03	7,42	0,09
Recette D	6,60	0,07	7,48	0,08	7,36	0,08	7,44	0,04	7,47	0,02	7,49	0,03
Recette E	6,60	0,07	7,32	0,04	7,03	0,03	7,32	0,05	7,19	0,05	7,23	0,01
Recette F	6,60	0,07	7,43	0,01	7,07	0,01	7,33	0,02	7,20	0,04	7,25	0,05
Recette G	6,60	0,07	6,42	0,00	6,43	0,01	6,60	0,04	6,80	0,05	6,90	0,04
Recette H	6,60	0,07	6,59	0,02	6,55	0,02	6,56	0,02	6,96	0,07	6,99	0,02

Tableau B.5 : Tableau de compilation de l'évolution des valeurs d'oxydoréduction dans le temps

Série	Jour 0		Jour 14		Jour 28		Jour 42		Jour 84		Jour 168	
	Redox (mV)	écart type	Redox (mV)	écart type	Redox (mV)	écart type	Redox (mV)	écart type	Redox (mV)	écart type	Redox (mV)	écart type
Contrôle	-39,80	2,96	13,63	2,29	-64,23	45,41	-366,07	1,94	-93,67	14,45	13,43	8,05
Recette A	-39,80	2,96	-78,17	25,19	23,00	12,09	9,53	0,29	24,80	1,76	5,40	2,08
Recette B	-39,80	2,96	-566,47	2,38	-371,70	15,01	-370,10	11,25	-382,13	8,89	-580,63	4,29
Recette C	-39,80	2,96	9,17	0,37	32,60	2,78	33,07	4,31	35,17	3,14	-28,30	3,54
Recette D	-39,80	2,96	14,70	4,36	55,40	2,40	56,87	0,57	75,17	3,22	-5,93	1,39
Recette E	-39,80	2,96	-1,33	2,33	-258,30	14,50	-290,70	17,41	-383,03	17,44	-161,83	158,99
Recette F	-39,80	2,96	21,50	12,58	-178,40	62,07	-341,53	20,70	-361,40	15,01	-95,20	3,10
Recette G	-39,80	2,96	-536,13	3,35	-368,43	22,51	-375,93	2,48	-399,73	1,84	-419,80	3,42
Recette H	-39,80	2,96	-364,10	1,22	-343,63	1,73	-366,07	1,94	-383,53	8,30	-360,90	37,41

ANNEXE C

MÉTHODE ANALYTIQUE: DOSAGE PAR «PURGE AND TRAP» COUPLÉ
À UNE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

MÉTHODE ANALYTIQUE DOSAGE PAR « PURGE AND TRAP » COUPLÉ À UNE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

C.1 Description de la méthode analytique: dosage par « Purge and Trap » couplé à une chromatographie en phase gazeuse

La méthode analytique a été mise au point en suivant les recommandations et les critères d'acceptabilités du guide MA.400-COV 1.1 (édition 2002-12-19, révisé 2008-12-12) du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ) ; *Détermination des composés volatils organiques : dosage par « Purge and Trap » couplé à chromatographe en phase gazeuse et à un spectromètre de masse*. Les composés organiques volatils chlorés (COVC) sont extraits par barbotage avec un gaz inerte et trapper par un adsorbant de type Vocarb 3000 pour ensuite être analysé par chromatographie en phase gazeuse (CPG). Les composés sont détectés grâce à un détecteur de type ECD (« electron capture detector ») ou FID (« flame ionisation detector ») selon le cas.

C.2 Appareillage et conditions d'analyse

Condition du P&T

Les conditions du P&T sont les suivantes :

Tableau C.1 : Conditions du P&T

Température de la ligne de transfert	150 °C
Température de l'échantillon	90 °C
Temps de purge	11 minutes
Température de préchauffage de désorption	40°C
Temps de purge à sec (dry purge)	0.25 minute
Température de purge à sec	40°C
Flux de purge à sec	80 ml/min
Temps de désorption	3.00 min
Température de désorption	245 °C
Flux de désorption	20 ml/min
Temps de cuisson (bake)	13 minutes
Température de cuisson	260 °C
Flux de cuisson	40 ml/min

Conditions du CPG

Les conditions de chromatographe en phase gazeuse sont les suivantes :

Tableau C. 2 : Conditions du CPG

Colonne	Description : CP 8567 Longueur : 30m Diamètre interne : 0.32 mm Phase stationnaire : 4µm		
Débit	1.8 ml/min en flux constant		
Split ratio	Initial off 0.00 à 2.10 min split à 25 2.10 à 7.11 min split à 100 7.11 min split à off		
Température de l'injecteur	200 °C		
Température initiale de la colonne	40 °C		
Palier de température	Taux (°C)	Température (°/min)	Temps (min)
	initial	40	4.00
	5.0	86	0.00
	10.0	120	0.00
	20.0	150	4.00
	40.0	200	5.00
Temps d'analyse	28.35 min		
Détecteur ECD	Température : 300 °C Range : 12 Time constant : Fast		
Détecteur FID	Température : 300 °C Range : 10 Time constant : Fast Cell current selection : CAP Cell contact potential : 400 mV		

C.3 Identification des composés analysés

Au total 14 composés sont dosés lors des analyses. Le tableau suivant dresse la liste de ces composés, de leurs numéros de cas et de leur formule chimique semi-développée.

Tableau C.3 : Numéro de CAS et formule chimiques des composés analysés

Nom des composés	Numéro de CAS	Formule chimique
Chlorure de vinyle	75-01-4	$\text{CH}_2=\text{CHCl}$
Cis-1,2-dichloroéthylène	156-59-2	$\text{ClCH}=\text{CHCl}$
Trans-1,2-dichloroéthylène	156-60-5	$\text{ClCH}=\text{CHCl}$
1,1-dichloroéthylène	75-35-4	$\text{Cl}_2\text{C}=\text{CH}_2$
Trichloroéthylène	79-01-6	$\text{Cl}_2\text{C}=\text{CHCl}$
tétrachloroéthylène	127-18-4	$\text{Cl}_2\text{C}=\text{CCl}_2$
1,2-dichloroéthane	107-06-2	$\text{ClCH}_2-\text{CH}_2\text{Cl}$
1,1,1-trichloroéthane	71-55-6	$\text{Cl}_3\text{C}-\text{CH}_3$
Benzène	71-43-2	C_6H_6
Éthyl benzène	100-41-4	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{C}_2\text{H}_5$
Toluène	108-88-3	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_3$
o-xylène	95-47-6	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_3$ (CH_3 position 1 et 2)
m-xylène	108-38-3	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_3$ (CH_3 position 1 et 3)
p-xylène	106-42-3	$\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_3$ (CH_3 position 1 et 4)
Nom des standards internes	Numéro de CAS	Formule chimique
Bromochlorométhane	74-97-5	BrClCH_2
2-Bromo-1-chloropropane	3017-95-6	$\text{ClCH}_2-\text{BrCH}-\text{CH}_3$
1,4-Dichlorobutane	110-56-5	$\text{ClCH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{ClCH}_2$

C. 4 Étalonnage

Solution d'étalonnage

L'étalonnage a été effectué avec 7 solutions standards. Chacune des solutions a été analysée un minimum de 5 fois pour répondre aux critères d'acceptabilités du document MA.400-COV 1.1.

Tableau C.4: Concentration des solutions d'étalonnages

Solution d'étalonnage	Concentration des solutions d'étalonnage	Concentration injectée
Niveau 1	10 mg/L	2 µg/L
Niveau 2	20 mg/L	4 µg/L
Niveau 3	40 mg/L	8 µg/L
Niveau 4	80 mg/L	16 µg/L
Niveau 5	160 mg/L	32 µg/L
Niveau 6	320 mg/L	64 µg/L
Niveau 7	640 mg/L	128 µg/L

Ces solutions sont fabriquées à partir du composé pur dilué dans le méthanol. La concentration injectée correspond à 1µl de solution standard concentrée dans 5ml d'eau bi-distillée. Le facteur de dilution est donc de 5000.

Temps de rétention, détecteur et standard interne attribué pour chaque composé

Tableau C.5 : Tableau du temps de rétention, du standard interne et détecteur attribué pour chaque composé

Composé	Standard interne	Détecteur	Temps de rétention (min)
Chlorure de vinyle	Bromochlorométhane	FID	5.24
1,1-dichloroéthylène	Bromochlorométhane	ECD	8.13
Trans-1,2-dichloroéthylène	Bromochlorométhane	FID	9.81
Cis-1,2-dichloroéthylène	Bromochlorométhane	FID	11.99
1,1,1-trichloroéthane	Bromochlorométhane	FID	13.12
1,2-dichloroéthane	Bromochlorométhane	ECD	13.90
Benzène	2-Bromo-1-chloropropane	FID	13.93
Trichloroéthylène	2-Bromo-1-chloropropane	FID	15.21
Toluène	2-Bromo-1-chloropropane	FID	17.51
Tétrachloroéthylène	2-Bromo-1-chloropropane	FID	18.44
Éthyl benzène	1,4-Dichlorobutane	FID	20.07
m-xylène	1,4-Dichlorobutane	FID	20.28
p-xylène	1,4-Dichlorobutane	FID	20.28
o-xylène	1,4-Dichlorobutane	FID	21.06
Bromochlorométhane	N/A	ECD et FID	12.53
2-Bromo-1-chloropropane	N/A	ECD et FID	18.09
1,4-Dichlorobutane	N/A	ECD et FID	22.04

Le détecteur attitré correspond au détecteur qui permet le meilleur signal et la meilleure répétabilité. Il est à noter que le Benzène et le 1,2-dichloroéthane ont le même temps de rétention. Ceci ne pose cependant aucun problème analytique puisque le Benzène est analysé au FID et le 1,2-dichloroéthane au ECD. Le p-xylène et m-xylène sont inséparable et doivent être tous deux analysés au FID, ils seront donc traités comme un mélange sans distinction pour la forme méta ou para. Le standard interne attitré correspond au standard dont le temps de rétention se rapproche davantage au temps de rétention du composé en question.

Facteur de réponse et droite de régression

Tableau C.6 : Facteurs de réponses moyens et pentes de droite de régression

Composé	Facteur de réponse moyen	Pente de la droite
Chlorure de vinyle	0.8001	2.3103
Cis-1,2-dichloroéthylène	2.5181	5.3268
Trans-1,2-dichloroéthylène	1.9484	4.3654
1,1-dichloroéthylène	0.0455	0.0520
Trichloroéthylène	0.7027	0.7062
Tétrachloroéthylène	0.6121	0.6155
1,2-dichloroéthane	0.0380	0.0200
1,1,1-trichloroéthane	1.7102	1.7478
Benzène	0.3163	0.2957
Éthyl benzène	2.5232	2.6412
Toluène o-	4.3145	3.9689
xylène	2.5024	4.8021
p,m-xylène	2.4816	1.6222

L'équation du facteur de réponse moyen est donnée dans la section C.8 (*Équations et calculs*). Il correspond au produit des rapports réponse (ère sous la courbe) sur concentration, du composé et du standard interne. La pente de la droite coupe l'axe des x à zéro. L'ordonnée à l'origine est donc nul. La pente correspond au ratio de l'air du composé sur l'air du standard interne en fonction du ratio de la concentration du composé sur la concentration du standard interne (AS/ASI en fonction de CS/CSI , se référer à la section C.8).

C.5 Critère d'acceptabilité

Les critères d'acceptabilité de la méthode du document MA.400-COV 1.1. sont basés sur les valeurs de déviation standard relative (DSR) du facteur de réponse moyenne et sur le facteur de corrélation (R^2) de la droite de régression.

Tableau C.7 : Critère d'acceptabilité pour chaque composé

Composé	DSR du facteur de réponse moyen	R^2
Chlorure de vinyle	8.131	0.9902
Cis-1,2-dichloroéthylène	4.066	0.9983
Trans-1,2-dichloroéthylène	3.327	0.9946
1,1-dichloroéthylène	4.548	0.9973
Trichloroéthylène	3.007	0.9998
Tétrachloroéthylène	4.668	0.9999
1,2-dichloroéthane	4.155	0.9828
1,1,1-trichloroéthane	5.641	0.9997
Benzène	12.076	0.9990
Éthyl benzène	3.021	0.9993
Toluène o-	5.415	0.9990
xylène	5.237	0.9992
p,m-xylène	2.993	0.9987

La déviation standard relative du facteur de réponse moyen doit être inférieure à 25% pour 90% des composés selon la méthode d'analyse MA.400 – COV 1.1 (révisé 2008-12-12) du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Dans la méthode d'analyse présentée ici, 100% des composés ont une déviation standard relative inférieure à 25%. Le facteur de corrélation doit être supérieur à 0.990 pour 90% des composés selon le même document. Dans la méthode présentée ici, 92.3% des composés ont un facteur de corrélation supérieur à 0.990.

C.6 Limite de la méthode

Limite de détection et de quantification

Tableau C.8 : Limite de détection et de quantification pour chaque composé

Composé	Limite de détection (µg/L)	Limite de quantification (µg/L)
Chlorure de vinyle	1.20	4.00
Cis-1,2-dichloroéthylène	0.50	1.68
Trans-1,2-dichloroéthylène	1.43	4.77
1,1-dichloroéthylène	2.61	8.28
Trichloroéthylène	0.20	0.65
Tétrachloroéthylène	0.13	0.44
1,2-dichloroéthane	1.47	4.89
1,1,1-trichloroéthane	0.20	0.78
Benzène	0.55	1.85
Éthyl benzène	0.32	1.07
Toluène o-	0.40	1.26
xylène	0.34	1.14
p,m-xylène	0.42	1.39

Les limites de détections sont fixées en fonction des critères d'acceptabilités. La limite de détection correspond à la valeur où le composé est détecté par l'appareil. La limite de quantification correspond à la limite à laquelle la méthode peut être appliquée pour quantifier avec justesse les concentrations des différents composés. Les calculs utilisés sont présentés dans la section C.8 (*Équations et calculs(P&T-GC)*).

Domaine de linéarité

Tableau C.9 : Domaine de linéarité pour chaque composé

Composé	Domaine de linéarité
Chlorure de vinyle	4 à 128 µg/L
Cis-1,2-dichloroéthylène	4 à 128 µg/L
Trans-1,2-dichloroéthylène	4 à 128 µg/L
1,1-dichloroéthylène	4 à 128 µg/L
Trichloroéthylène	2 à 128 µg/L
Tétrachloroéthylène	2 à 128 µg/L
1,2-dichloroéthane	2 à 128 µg/L
1,1,1-trichloroéthane	2 à 128 µg/L
Benzène	2 à 128 µg/L
Éthyl benzène	2 à 128 µg/L
Toluène o-	2 à 128 µg/L
xylène	2 à 128 µg/L
p,m-xylène	2 à 128 µg/L

Le domaine de linéarité prend en compte la limite de détection et le niveau de saturation du détecteur respectif de chaque composé. Les limites du domaine de linéarité sont fixées en fonction des critères d'acceptabilités et des observations faites durant la calibration de la méthode.

C.7 Protocole d'analyse

Conservation des échantillons

Les échantillons dont les composés organiques volatils et BTEX doivent être dosés sont conservés à basse température (4 °C), dans un contenant ambré et muni d'un septum à l'abri de la lumière.

Analyse par P&T-GC

Avant toute analyse, la totalité de la verrerie, les seringues et le P&T sont rincée trois fois avec un mélange d'eau désionisée et de méthanol à raison d'un rapport de 1 :5000. Une cuisson est effectuée sur le système de P&T. La colonne du GC est conditionnée en augmentant la température à 200 °C pendant 20 minutes.

L'échantillon est prélevé à l'aide d'une seringue étanche de type 'luer-lock' et filtré à 0.45µm avec un filtre fixé au bout de la seringue. On prélève ainsi 5 ml auxquels on ajoute 1µl du mélange de standard interne à 80mg/L. Le tout est injecté dans le P&T. Chaque condition est analysée en triplicata. Le résultat correspond donc à la moyenne de ces triplicatas.

La séquence d'analyse débute par un contrôle de contamination (blanc). De l'eau désionisée est analysée pour détecter une possible contamination. Une contamination implique un nettoyage complet du système et de la verrerie au méthanol. Les échantillons sont ensuite analysés et dilués dans le cas d'une valeur au-dessus du domaine de linéarité. À toutes les 10 lectures, on analyse une solution d'étalonnage de valeur intermédiaire (16-32µg/L) pour s'assurer que la méthode satisfait aux critères d'acceptabilités décrits dans la section C.4 (*Critère d'acceptabilité*). Les concentrations des composés sont calculées selon l'équation 2 de la section C.7 (*Équations et calculs (P&T-GC)*).

C.8 Équations et calculs (P&T-GC)

$$\text{Facteur de réponse (FR)} = [A_S \times C_{SI}] / [A_{SI} \times C_S] \quad [1]$$

$$\text{Concentration d'échantillon (C}_{ech}) = [A_S \times C_{SI}] / [FR_{moyen} \times A_{SI}] \quad [2]$$

Statistique relative aux calculs de validations

$$\text{Erreur standard sur l'estimé (ESE)} = \sqrt{[\sum (Y_{obs} - Y_{est})^2 / (n-2)]} \quad [3]$$

$$\text{Limite de détection (LD)} = [3 \times ESE] / A \quad [4]$$

$$\text{Limite de quantification (LQ)} = [10 \times ESE] / A \quad [5]$$

FR : Facteur de Réponse du composé dosé

C_{ech} : Concentration du composé dosé dans l'échantillon inconnu

LD : Limite de Détection

LQ : Limite de Quantification

A_S : Air du composé

A_{SI} : Air du Standard Interne

A : Sensibilité analytique (pente de la droite de régression)

C_S : Concentration du composé (Standard)

C_{SI} : Concentration du Standard Interne

ESE: Erreur Standard sur l'Estimé

Y_{obs}: Réponse observée (rapport des aires sous la courbe soit C_S/C_{SI})

Y_{est}: Réponse estimée et donc calculée à partir de la droite de régression (courbe standard)

ANNEXE D

**MÉTHODE ANALYTIQUE: CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE
PAR «HEAD SPACE»**

MÉTHODE ANALYTIQUE : CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE PAR « HEAD SPACE »

D.1 Description de la méthode analytique : chromatographie en phase gazeuse par « head space »

Un minimum de 10 ml de volume de gaz prélever dans les réacteurs (*head space*) est directement prélevé avec une seringue « gas tight » de Hamilton (no 1010-LT) et injectée dans le chromatographe en phase gazeuse de type Varian Star 3400 Cx.

D.2 Condition du CPG-Head Space

Tableau D.1 : Conditions du CPG-Head Space

Temps d'analyse	5.5 minutes
Température de colonne initiale	50 °C
Température d'injecteur	175 °C
Température de détecteur	150 °C
Détecteur FID	Atténuation : 8 Range : 11 Autozéro : ON
Détecteur TCD	Atténuation : 8 Range : 0.5 Température du filament : 190

D.3 Identification des composés gazeux analysés

Tableau D.2 : Numéros de CAS et formule chimique des composés gazeux analysés

Identification du gaz	Numéro CAS	Formule chimique
Méthane	74-82-8	CH ₄
Éthane	74-84-0	H ₃ C-CH ₃
Éthylène	74-85-1	H ₂ C=CH ₂
Acétylène	74-86-2	HC≡CH

Les quatre gaz produits lors de la dégradation des composés organiques volatils seront dosés semi quantitativement pour mieux cerner les processus de dégradations et leurs importances relatives. Dans le tableau D.3 ci-haut on peut voir leur numéro d'identification CAS et leur formule chimique semi-développée.

D.4 Étalonnage

Solution d'étalonnage

Tableau D.3 : Concentration des solutions d'étalonnages gazeuses

Étalonnage	Concentration des gaz (ppm)
Niveau 1	1
Niveau 2	10
Niveau 3	100
Niveau 4	500
Niveau 5	1000

Les différentes concentrations sont fabriquées à partir de gaz concentré et dilué dans des cloches de verre avec de l'azote de grade approprié pour la chromatographie. Chaque niveau est analysé au moins 5 fois.

Temps de rétention et détection attitré pour chaque composé

Tableau D.4 : Détecteur attitré et temps de rétention des composés gazeux

Composé	Détecteur	Temps de rétention (minute)
Méthane	FID	1.046
Éthane	FID	4.961
Éthylène	FID	3.547
Acétylène	FID	3.553

Le temps de rétention correspond à la moyenne de toutes les injections effectuées. Tous les composés sont analysés avec le FID.

Pente de la droite et facteur de corrélation des composés gazeux

Tableau D.5 : Pente de la droite de régression et facteur de corrélation pour les composés gazeux

Composé	Pente de la droite	Facteur de corrélation (R^2)
Méthane	6568	0.9998
Éthane	12308	0.9921
Éthylène	14364	0.9988
Acétylène	9990.1	0.9991

Les droites des courbes standards ont été construites avec un graphique de l'aire sous la courbe (nombre de comptes du FID) en fonction de la concentration en ppm. L'ordonnée à l'origine coupe l'axe des Y à 0. Dans la méthode présentée, 100% des composés ont un facteur de corrélation supérieur à 0.990 ce qui correspond aux critères d'acceptabilité.

D.5 Limite de la méthode

Domaine de linéarité de la méthode CPG-« Head Space »

Tableau D.6 : Domaine de linéarité de la méthode CPG-« Head Space »

Composé	Domaine de linéarité (ppm)
Méthane	5 à 1000
Éthane	1 à 1000
Éthylène	1 à 1000
Acétylène	5 à 1000

Le domaine de linéarité prend en compte la limite de détection et le niveau de saturation des détecteurs respectifs de chaque composé. Les limites du domaine de linéarité sont fixées en fonction des critères d'acceptabilités et des observations faites durant la calibration de la méthode.

D.6 Protocole d'analyse

Les dilutions pour les différentes concentrations d'étalonnage sont effectuées à l'aide de cloche de verre avec de l'azote de grade approprié pour la chromatographie en phase gazeuse.

Avant toute analyse un contrôle de fuite/contamination est effectué en injectant de l'azote pur. Ensuite 3 analyses de standard sont injectées pour vérifier la stabilité du système et vérifier que la répétabilité atteint 95% au minimum. Un blanc d'azote et une injection de standard sont effectués à toutes les 10 analyses pour vérifier les critères d'acceptabilités de la méthode.

Les bioréacteurs sont analysés pour les gaz en « head space » avant les analyses pour les composés dissouts pour ne pas perturber l'équilibre matrice-« head space ». Un minimum de 10 ml est prélevé à l'aide d'une seringue « gas tight » et injecté directement dans le système

chromatographique. Chaque condition est analysée trois fois et la moyenne de ces analyses correspond à la valeur rapportée.

Les concentrations des différents gaz sont calculées selon les équations et calculs présentés à la section D.7 (*Équations et calculs « Head-Space »*).

D.7 Équation et calculs

Calcul des concentrations

On suppose l'équilibre entre la phase soluble et la phase gazeuse.

$$V_v = V_s + V_g \quad [6]$$

$$\beta = V_g/V_s \quad [7]$$

$$V_g = V_v \cdot \beta/(1 + \beta) \quad [8]$$

$$W_o = W_s + W_g \quad [9]$$

$$W_o = C_o \cdot V_s \quad [10]$$

$$W_s = C_s \cdot V_s \quad [11]$$

$$W_g = C_g \cdot V_g \quad [12]$$

$$K = C_s/C_g \quad [13]$$

En remaniant, on obtient:

$$C_s = K \cdot C_g \quad [14]$$

$$C_o \cdot V_s = C_g \cdot (K \cdot V_s + V_g) \quad [15]$$

$$K = (W_s/W_g) \cdot \beta \quad [16]$$

$$C_g = C_o/(K + \beta) \quad [17]$$

En reformulant l'équation 17 on obtient:

$$C_o = C_g(K + \beta)$$

et si $\beta = V_g/V_s$ selon l'équation 7

La concentration dans la solution du réacteur (C_o) est égale à :

$$C_o = C_g (K_H + (V_g/V_s)) \quad [18]$$

W_o : quantité d'analyte dans l'échantillon

W_s : quantité d'analyte dans la phase soluble

W_g : quantité d'analyte dans la phase gazeuse

C_o : concentration originale

C_g : concentraion dans la phase gazeuse

C_s : concentration dans la phase soluble

V_v : volume total

V_s : Volume de la phase soluble

V_g : Volume de la phase gazeuse (head space)

V_o : Volume de l'échantillon original

K : coefficient de partage matrice-head space

Calcul de la constante de Henry (k)

La loi de Henry en fonction de la température est définie comme suit :

$$k_H = k_H^\ominus \times \exp \left(\frac{-\Delta_{\text{soln}} H}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T^\ominus} \right) \right) \quad [19]$$

La dépendance de k_H avec la température est définie comme suit:

$$\frac{-d \ln k_H}{d(1/T)} = \frac{\Delta_{\text{soln}} H}{R} \quad [20]$$

Où

$\Delta_{\text{soln}}H$ est l'enthalpie de la solution

k_H^\ominus est la constante de Henry à des conditions standard

T^\ominus est la température standard

(298.15 K) T est la température en

Kelvin

R est la constante des gaz ($8,314472 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$)

Tableau D.7 : Enthalpie et constante de Henry des gaz mesurés

Composé	k_H^\ominus	$\frac{-\Delta_{\text{soln}}H}{R}$	k_H à 294.15 K (21°C) Selon l'équation 9
Méthane	1.4×10^{-3}	1700	1.3×10^{-3}
Éthane	1.8×10^{-3}	2400	1.61×10^{-3}
Éthylène	4.7×10^{-3}	1800	4.33×10^{-3}
Acétylène	4.1×10^{-2}	1800	3.78×10^{-2}

Ces valeurs sont tirées de Wilhelm et al. 1977

Le tableau D.7 fournit la valeur de k à appliquer dans l'équation 18.

C_g est donné par les analyses chromatographiques, k est spécifique à chaque composé et est donné par le tableau précédent, V_g/V_s correspond au volume de « head space » sur le volume de matrice dans le bioréacteur. β est une constante dans notre cas puisque le volume V_g/V_s est constant dans tous les bioréacteurs (soit $75/180 = 0.4167$).

Selon l'équation 18, la concentration du gaz soluble (en ppm) est égale à la concentration du gaz dans le « head space » (en ppm) multiplié par la somme de la constante de Henry respective (à 21°C) et du rapport « head space » sur le volume d'eau.

BIBLIOGRAPHIE

- Abelson, P.H., 1990. *Incorporation of New Risk Assessment*. Science, Vol. 250: 497.
- AFCEE (Air Force Center for Engineering and the Environmental, Environmental Science Division Technology Transfer Outreach Office), 2007. *Protocol for in situ Bioremediation of Chlorinated Solvents Using Edible Oil*. Publication en ligne :
<http://www.clu-in.org/download/remed/Final-Edible-Oil-Protocol-October-2007.pdf>
- AFCEE (Air Force Center for Engineering and the Environmental). 2004. *Principles and Practices of Enhanced Anaerobic Remediation of Chlorinated Solvents*. Publication en ligne :
http://costperformance.org/remediation/pdf/principles_and_practices_bioremediation.pdf
- Antony, H.; Labrit, A.; Rouchaud, J.C.; Legrand, L.; Chaussé, A., 2008. *Study of Fe^{II}/Fe^{III} Ratio in Thin Films of Carbonate or Sulphate Green Rusts Obtained by Potentiostatic Electrosynthesis*, Electrochimica Acta, Vol., 53, no 24: 7173-7181.
- Amos, B.K.; Suchomel, E.J.; Pennell, K.D.; Löffler, F.E., 2008. *Microbial Activity and Distribution During Enhanced Contaminant Dissolution from a NAPL Source Zone*, Water Research, Vol. 42, no 12: 2963–2974.
- Aulenta, F.; Majone, M.; Tandoi, V., 2006. *Enhanced Anaerobic Bioremediation of Chlorinated Solvents: Environmental Factors Influencing Microbial Activity and their Relevance under Field Conditions*, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, Vol. 8: 1463–1474.
- ASTDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 1997a. *Toxicological Profile for Tetrachloroethylene*, US Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- ASTDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 1997b. *Toxicological Profile for Trichloroethylene*, US Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Bhatti, Z.A.; Mahmood, Q.; Raja, I.A.; Malik, A.H.; Rashid, N., 2011. *Integrated Chemical Treatment of Municipal Wastewater Using Waste Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Light*, Physics and Chemistry of the Earth, Vol. 36, no. 9-11: 459-464.
- Becker, J.G., 2006. *Modeling Study and Implications of Competition between Dehalococcoides Ethnogenes and Other Tetrachloroethene Respiring Bacteria*, Environmental Science & Technology, Vol. 40, no. 14: 4473-4480.
- Bellamy, W.D.; Hickman, G.T.; Mueller, P.A.; Ziemba, N., 1991. *Treatment of VOC-Contaminated Groundwater by Hydrogen Peroxide and Ozone Oxidation*, Research Journal of the Water Pollution Control Federation, Vol. 63, No. 2: 120-128.
- Bianchi, A., 2009. *Déchloration Réductrices du Perchloroéthylène et du Trichloroéthylène à l'aide d'un Résidu industriel Riche en Magnétite Incorporé à une Émulsion «huile dans eau»*, Mémoire présenté à l'Université du Québec à Montréal, pp. 90.

- Bouwer, E.J., 1994. *Bioremediation of Chlorinated Solvents Using Alternate Electron Acceptors*. Handbook of Bioremediation (Eds. Norris, R.D.; Hinchee, R.E.; Brown R.; McCarty, P.L.; Wilson, J.T.; Reinhard, M.; Bouwer, E.J.; Bordon, R.C.; Vogel, T.M.; Thomas, J.M.; Ward, C.H.). Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 149-175.
- Bradley, P.M.; Chapelle, F. H., 2007. *Accumulation of Dechlorination Daughter Products: A Valid Metric of Chloroethene Biodegradation*. Remediation. Online publication : www.interscience.wiley.com.
- Bradley, P.M.; Chapelle, F.H., 1999a. Methane as a Product of Chloroethene Biodegradation Under Anaerobic Conditions, *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 33, 653-656.
- Bradley, P.M.; Chapelle, F.H., 1999b. Role of Acetotrophic Methanogens in Methanogenic Biodegradation of Vinyl Chloride. *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 33, 3473-3476.
- Bradley, P.M.; Landmeyer, J.E., Dinicola R.S., 1998. Anaerobic oxidation of [1,2-¹⁴C] Dichloroethene Under Mn(IV)-reducing Conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 64: 1560-1562.
- Canada¹. *Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999) : Règlement sur le Tétrachloroéthylène (utilisation pour le nettoyage à sec et rapports)*. Gazette du Canada. Partie II, Vol. 137, p. 886-912, SOR/DORS/2003-79. Ottawa : Imprimeur de la Reine pour le Canada. (2003). Publication en ligne : <http://canadagazette.gc.ca/partII/2003/20030312/html/sor79-f.html>
- Canada². *Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999): Règlement sur les solvants de dégraissage*. Gazette du Canada. Partie II, Vol. 137, p. 2185-2194. Ottawa : Imprimeur de la Reine pour le Canada (2003). SOR/DOR/2003-283. Publication en ligne : <http://canadagazette.gc.ca/partII/2003/20030813/html/sor283-f.html>
- CEAEQ (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec), 2002a. *Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie*. DR-12-VMC., 27 pages.
- CEAEQ (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec), 2002b. *Détermination des composés organiques volatiles : dosage par « Purge and trap » couplé à un chromatographe en phase gazeuse et à un spectromètre de masse*. MA. 400 – COV 1.1., 36 pages.
- Chen, G.; Hoag, G.E.; Chedda, P.; Nadim, F.; Woody, B.A.; Dobbs, G.M., 2001. *The Mechanism and Applicability of In Situ Oxidation of Trichloroethylene with Fenton's Reagent*, *J. Hazard. Mater*, Vol 87: 171-186.
- Choi, J.; Batchelor, B.; Chung, J., 2010. *Reductive Dechlorination of Tetrachloroethylene by Green Rusts Modified with Copper*; *Water, Air, & Soil Pollution*, Vol. 212, no. 1-4: 407-417.
- Coleman, N.V.; Mattes, T.E., Gosset, J.M.; Spain, J.C., 2002. Phylogenetic and Kinetic Diversity of Aerobic Vinyl Chloride-Assimilating Bacteria from Contaminated Sites, *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 68: 6161-6171.
- Cupples, A.M.; Spormann, A.M.; McCarty, P.L., 2004. *Comparative Evaluation of Chloroethene Dechlorination to Ethene by Dehalococcoides-like Microorganisms*. *Environmental Science & Technology*, Vol. 38, no. 18: 4768-4774.
- Cupples, A.M.; Spormann, A.M.; McCarty, P.L., 2002. *Comparative Evaluation of Chloroethene Dechlorination to Ethene by Dehalococcoides-like Microorganisms*, *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 38, no 18: 4768-4774.

- Dennis, P.; Dollar, P.; Roberts, J.; Dworatzek, S., 2012. *Biorestauration In Situ Améliorées Visant les Éthènes Chlorés – Une Perspective Canadienne*. Atelier National sur les sites contaminés fédéraux 2012 de l'IBIC. Publication en ligne : http://www.rpic-ibic.ca/documents/2012_fcs_presentations/Dennis_F.pdf
- DiStefano, T.D.; Baral, R.; Duran, M.; Speece, R.B., 2001. *A Comparison of Complex Electron Donors for Anaerobic Dechlorination of PCE*, Bioremediation Journal, Vol. 5, no 2: 131-143.
- Duhamel, M.; Edwards, E.A., 2006. *Microbial Composition of Chlorinated Ethene-degrading Cultures Dominated by Dehalococcoides*, FEMS Microbiology Ecology, Vol 58., no. 3: 538–549.
- Dror, I.; Schlautman, M.A., 2004. *Cosolvent Effect on the Catalytic Reductive Dechlorination of PCE*, National Library of Medicine.Chemosphere, Vol. 57, no. 10 : 1505-1514.
- Ernest, M.O.; Aranda, E.; Caminal, G., 2009. *Induction of Hydroxyl Radical Production in Trametes Vesicular to Degrade Recalcitrant Chlorinated Hydrocarbons*, Bioresource Technology, Vol. 100, no. 23: 5757-5762.
- Fennell, D. E.; Gosset, J.M.; Zinder, S.H., 2007. *Comparison of Butyric Acid, Ethanol, Lactic Acid, and Propionic Acid as Hydrogen Donors for the Reductive Dechlorination of Tetrachloroethylene*. Environ. Sci. Technol. 31: 918-926.
- Ferrey, M.L.; Wilkin, R.T.; Ford, R.G.; Wilson, J.T., 2004. *Nonbiological Removal of cis-Dichloroethylene and 1,1-Dichloroethylene in Aquifer Sediment Containing Magnetite*, Environmental Science & Technology, Vol. 38, no. 6: 1746-1752.
- Fetzner, S., 1998. *Bacterial Dehalogenation*. Applied Microbiology and Biotechnology, Vol. 50, no. 6: 633-657.
- Fournier St-Laurent S., 2009. *Encapsulation de Dehalococcoides : avantage pour la déhalogénéation des solvants chlorés en sites contaminés*, mémoire présenté à l'Université de Montréal, pp.112.
- Freeborn, R.A.; West, K.A.; Bhupathiraju, V.K.; Chauhan, S.; Rahm, B.G.; Richardson, R.E.; Alvarez-Cohen L., 2005. *Phylogenetic Analysis of TCE-Dechlorinating Consortia Enriched on a Variety of Electron Donors*, Environ. Sci. Technol., Vol. 39, no. 21:8358–8368.
- Fritsch, J.M.; McNeill, K., 2005. *Aqueous Reductive Dechlorination of Chlorinated Ethylenes with Tetrakis(4-carboxyphenyl) Porphyrin Cobalt*, National Library of Medicine, Inorganic chemistry, Vol. 44, no. 13: 4852-4861.
- Génin, J-M.R.; Ruby, C.; Géhin, A.; Refait, P., 2006. *Synthesis of Green Rusts by Oxidation of Fe(OH)₂, Their Products of Oxidation and Reduction of Ferric Oxyhydroxides; E_h-pH Pourbaix Diagrams*, Comptes Rendus Geosciences, Vol. 338, no. 6-7: 433-446.
- Génin, J-M.R.; Abdelmoula, M.; Chandan Upadhyay, C.R., 2006b. *Speciation of Iron; Characterisation and Structure of Green Rusts and Fe^{II-III} Oxyhydroxycarbonate Fougerite*, Comptes Rendus Geosciences, Vol. 338, no. 6-7: 402-419.
- Gossett, J.M., 2010. *Sustained Aerobic Oxidation of Vinyl Chloride at Low Oxygen Concentrations*, Environmental Science & Technology, Vol. 44, no. 4: 1405-1411.
- Groster, A.; Edwards, E.A., 2006. *Growth of Dehalobacter and Dehalococcoides spp. during Degradation of Chlorinated Ethanes*, Applied environmental microbiology, Vol. 72, no. 1 : 428–436.

- He, J.; Sung, Y.; Krajmalnik-Brown, R.; Ritalahti, K.M.; Löffler, F.E., 2005. *Isolation and Characterization of Dehalococcoides sp. Strain FL2, a Trichloroethene (TCE)- and 1,2-dichloroethene-respiring Anaerobe*, Environ. Microbiol., Vol. 7:1442-1450.
- He, J.; Ritalahti, K.; Yang, K.; Koenigsberg, S.; Löffler, F., 2003. *Detoxification of Vinyl Chloride to Ethene Coupled to Growth of an Anaerobic Bacterium*, Nature, Vol. 424: 62-65.
- Henn, K.W.; Wadill, D.W., 2006. *Utilization of Nanoscale Zero-valent Iron for Source Remediation- A Case Study*. Remediation Journal, Vol. 16, no. 2: 57-77.
- Holliger, C.; Wohlfarth, G., 1998a. *Reductive Dechlorination in the Energy Metabolism of Anaerobic Bacteria*, FEMS Microbiology Reviews, Vol. 22, no. 5: 383-398.
- Holliger, C.; Hahn, D.; Harmsen, H.; Ludwig, W.; Schumacher, W.; Tindall, B.; Vazquez, F.; Weiss, N.; Zehnder, A.J.B., 1998b. *Dehalobacter Restrictus gen. nov. and sp. nov., a Strictly Anaerobic Bacterium that Reductively Dechlorinates Tetra and Trichloroethene in an Anaerobic Respiration*, Archives of Microbiology, Vol. 169, no. 4: 313-321.
- Jung, Y.; Choi, J.; Lee, W., 2007. *Spectroscopic Investigation of Magnetite Surface for the Reduction of Hexavalent Chromium*, Chemosphere, Vol. 68.
- Kendelewicz, T.; Liu, P.; Doyle, C.S.; Brown, G.E.; Nelson, E.J.; Chambers, S.A., 2000. *Zero-valent Iron Nanoparticles*, Surface Science, Vol. 453, no. 1: 32-46.
- Kim, Y. H.; Carraway, E.R., 2002. *Reductive Dechlorination of PCE and TCE by Vitamin B12 and ZVMs*, National Library of Medicine. Environmental Technology, Vol 23 no 10: 1135-1145.
- Koenig, J.C.; Lee, M.J.; Manefield, M., 2012. *Successful Microcosm Demonstration of a Strategy for Biodegradation of a Mixture of Carbon Tetrachloride and Perchloroethene Harnessing Sulfate Reducing and Dehalorespiring Bacteria*, Journal of Hazardous Materials, Vol. 219-220: 169-175.
- Lalman, J.; Bagley, D., 2000. *Anaerobic Degradation and Inhibitory Effects of Linoleic Acid*, Water Research, Vol. 34, no. 17: 4220-4228.
- Lee, H.K.; Do, S-H.; Batchelor, B.; Jo, Y-H.; Kong, S-H., 2009. *PCE DNAPL Degradation Using Ferrous Iron Solid Mixture (ISM)*, Chemosphere, Vol. 76, no 8: 1082-1087.
- Lee, W.; Batchelor, B., 2004a. *Abiotic Reductive Dechlorination of Chlorinated Ethylenes by Iron-Bearing Phyllosilicates*, Chemosphere, Vol. 56, no 10: 999-1009.
- Lee, W.; Batchelor, B., 2004b. *Abiotic Reductive Dechlorination of Chlorinated Ethylenes by Soil*, Chemosphere, Vol. 55, no 5: 705-713.
- Lee, W.; Batchelor, B., 2002a. *Abiotic Reduction Dechlorination of Chlorinated Ethylenes by Iron-Bearing Soil Minerals. 1. Pyrite and Magnetite*. Environmental Science and Technology, Vol. 36: 5147-5154.
- Lee, W.; Batchelor, B., 2002b. *Abiotic Reductive Dechlorination of Chlorinated Ethylenes by Iron-Bearing Soil Minerals. 2. Green Rust*, Environmental Science and Technology, Vol. 36, no. 24: 5348.

- Lendvay, J.M.; Löffler, F.E.; Dollhopf, M.; Aiello, M.R.; Daniels, G.; Fathepure, B.Z.; Gebhard, M., 2003. *Bioreactive Barriers: a Comparison of Bioaugmentation and Biostimulation for Chlorinated Solvent Remediation*, Environmental Science and Technology, Vol. 37, no. 7: 1422.
- Lesage, S.; Brown, S.; Millar, K., 1996. *Vitamin B12 Catalyzed Dechlorination of Perchloroethylene Present as Residual DNAPL*, Ground Water Monitor Rev., Vol. 16, no 4 : 76.
- Liang, X.; Paul, P.R.; Butler, E.C., 2009. *Kinetic and Isotope Analyses of Tetrachloroethylene and Trichloroethylene Degradation by Model Fe(II)-bearing Minerals*, Chemosphere, Vol. 75, no. 1: 63-69.
- Lo, I.M-C.; Surampalli, R.Y.; Lai, C.K., 2006. *Zero-Valent Reactive Materials for Hazardous Waste and Inorganic Removal*, ASCE Publications.
- Löffler, F.E.; Sun, Q.; Li, J.R.; Tiedje, J.M., 2000. *16S rRNA Gene-based Detection of Tetrachloroethene-Dechlorinating Desulfuromonas and Dehalococcoides species*, Applied and Environmental Microbiology, Vol 66, no 4: 1369–1374.
- Lorah, M.M.; Majcher, E.H.; Jones, E.J.; Voytek, E.A., 2007. *Microbial Consortia Development and Microcosm and Column Experiments for Enhanced Bioremediation of Chlorinated Volatile Organic Compounds*, West Branch Canal Creek Wetland Area, Aberdeen Proving Ground, Maryland, Scientific Investigations report, USGS:5165.
- Lorah, M.M.; Voytek, M.A., 2004. *Degradation of 1,1,2,2-tetrachloroethane and Accumulation of Vinyl Chloride in Wetland Sediment Microcosms and In Situ Porewater: Biogeochemical Controls and Associations with Microbial Communities*, Journal of Contaminant Hydrology, Vol., 70: 117– 145.
- Lorah, M.; Voytek, M.; Kirshtein, J.; Jones, E., 2003. *Anaerobic Degradation of 1,1,2,2-Tetrachloroethane and Association with Microbial Communities in a Freshwater Tidal Wetland, Aberdeen Proving Ground, Maryland: Laboratory Experiments and Comparisons to Field Data*. USGS Water-Resources Investigations Report 02–4157 (2003).
- Lu, X.; Kampbell, D.H.; Wilson, J.T., 2006. *Evaluation of the Role of Dehalococcoides Organisms in the Natural Attenuation of Chlorinated Ethylenes in Ground Water*. USEPA 2006.
- Maithreepala, R.A.; Doong, R.A., 2005. *Enhanced Dechlorination of Chlorinated Methanes and Ethenes by Chloride Green Rust in the Presence of Copper (II)*, Environmental Science and Technology, Vol., 39: 4082-4090.
- Major, D.W.; McMaster, M.L.; Cox, E.E.; Edwards, E.A.; Dworatzek, S.M.; Hendrickson, E.R.; Starr, M.G.; Payne, J.A.; Buonamici, L.W., 2002. *Field Demonstration of Successful Bioaugmentation to Achieve Dechlorination of Tetrachloroethene to Ethene*, Environmental Science and Technology, Vol. 36, no. 23: 5106–5116.
- Macbeth, T. W.; Nelson, L.; Rothermel, J. S.; Wymore, R. A.; Sorenson, K. J., 2006. *Evaluation of Whey for Bioremediation of Trichloroethene Source Zones*, Bioremediation Journal, Vol. 10, no. 3: 115-128.
- Manahan S.E., 2005. Environmental Chemistry, eight edition, CRC press, pp.783.
- Maymò-Gatell, X.; Nijenhuis, I.; Zinder, S.H., 2001a. *Reductive Dechlorination of cis-1,2-Dichloroethene and Vinyl Chloride by "Dehalococcoides ethenogenes"*, Environ. Sci. Technol., Vol. 35: 516-521.
- Maymò-Gatell, X.; Yueh-tyng, C.; Gossett, J.M.; Zinder, S.H., 2001b. *Isolation of a Bacterium that Reductively Dechlorinates Tetrachloroethene to Ethene*. Science. Vol. 276, no. 5318: 1568-1571.

Maymo-Gatell, X.; Chien, Y.; Gosset, J.M.; Zinder, S.H., 1997. *Isolation of a Bacterium that Reductively Dechlorinates Tetrachloroethane to Ethane*. Science, Vol. 276: 1568-1571.

Maymó-Gatell, X.; Tandoi, V.; Gossett, J.M.; Zinder, S. H., 1995. *Characterization of an H₂-utilizing Enrichment Culture that Reductively Dechlorinates Tetrachloroethene to Vinyl Chloride and Ethene in the Absence of Methanogenesis and Acetogenesis*, National Library of Medicine, Applied and Environmental Microbiology, Vol 61, no 11: 3928-3933.

McCarty, P.L.; Chu, M.Y.; Kitanidis, P.K., 2007. *Electron Donor and pH Relationships for Biologically Enhanced Dissolution of Chlorinated Solvent DNAPL in Groundwater* European Journal of Soil Biology, Vol. 43, no 5-6: 276-282.

McCarty, P.L.; Semprini, L., 1994. *Ground-water Treatment for Chlorinated Solvents*, Norris R.D., Ed. Handbook of bioremediation, Boca Raton. FL: Lewis Publishers: 87-116.

McCauley, K.M.; Pratt, D.A.; Wilson, S.R.; Shey, J.; Burkey, T.J.; Van Der Donk, W.A., 2005. *Properties and Reactivity of Chlorovinylcobalamine and Vinylcobalamine and their Implications for B₁₂-catalyzed Reductive Dechlorination of Chlorinated Alkenes*, Journal of the American Chemical Society, Vol. 127, no. 4: 1126-1136.

Mora, R. H.; Macbeth, T. W.; MacHarg, T.; Gundarlahalli, J.; Holbrook, H.; Schiff, P., 2008. *Enhanced Bioremediation Using Whey Powder for a Trichloroethene Plume in a High-sulfate Fractured Granitic Aquifer*, Remediation, Vol. 18, no. 3: 7-30.

Moretti, L., 2005. In Situ Bioremediation of DNAPL Source Zones. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Technology Innovation and Field Services.

Morrison R.D., 2002. Environmental forensics: Principles and Applications. 2002. CRC Press: pp. 351.

Murray, W. D.; Richardson, M., 1993. *Progress Toward the Biological Treatment of C_{sub}(1) and C_{sub}(2) Halogenated Hydrocarbons*. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, Vol. 23, no. 3: 195.

National Research Council. 2000. Natural Attenuation for Groundwater Remediation. National Academy Press, Washington, DC. 274 pp.

Nijenhuis, I.; Andert, J.; Beck, K.; Kaestner, M.; Diekert, G., 2005. *Stable Isotope Fractionation of Tetrachloroethene During Reductive Dechlorination by Sulfurospirillum Multivorans and Desulfitobacterium sp. Strain PCE-S and Abiotic Reactions with Cyanocobalamin*, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 71, no. 7: 3413-3419.

Northup, A.; Cassidy, D., 2008. *Calcium Peroxide (CaO_{sub}(2)) for Use in Modified Fenton Chemistry*, Journal of Hazardous Materials, Vol. 152, no. 3:1164-1170.

Noubactep, C., 2006. *Contaminant Reduction at the surface of elemental iron: the end of a myth*, Wissenschaftliche Mitteilungen, Vol. 31:173-179

Nuxoll, E.E.; Shimotori, T.; Arnold, W.A.; Cussler, E.L., 2003. *Iron Nanoparticules in Reactive Environmental Barriers*, Presentation at the AIChE Annual Meeting.

O'Loughlin, E.J.; Burris, D.R., 2004. *Reduction of Halogenated Ethanes by Green Rust*, Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 23: 41-48.

O'Loughlin, E.J.; Kemner, K.M.; Burris, D.R., 2003. *Effects of Ag(I), Au(III), and Cu(II) on the Reductive Dechlorination of Carbon Tetrachloride by Green Rust*, Environmental Science and Technology, Vol. 37: 2905-2912.

Pavlosthathis, S.G.; Prytula, M.T.; Yeh, D.H., 2002. *Potential and limitations of Microbial Reductive Dechlorination for Bioremediation Applications*, Water and Soil pollution, Vol. 3: 117-129

Reid, A.T., 2010. Anaerobic Biooxydation of Vinyl Chloride and Ethene, Thèse de Doctorat de l'Université de Clemson (Caroline du Sud, États-Unis). Publication en ligne : http://etd.lib.clemson.edu/documents/1285784936/Reid_clemson_0050M_10810.pdf

Richardson, M.; Murray, W.D., 1993. *Progress Toward the Biological Treatment of C sub(1) and C sub(2) Halogenated Hydrocarbons Critical Reviews*, Environmental Science and Technology. Vol. 23, no. 3,: pp 195.

Richardson, R. E.; Bhupathiraju, V.K.; Song, D.L.; Goulet, T.A.; Alvarez-Cohen, L., 2002. *Phylogenetic Characterization of Microbial Communities That Reductively Dechlorinate TCE Based Upon a Combination of Molecular Techniques*, Environ. Sci. Technol., Vol. 36: 2652-2662.

Santé Canada¹. Loi canadienne sur la protection de l'environnement : Liste des substances d'intérêt prioritaire, Rapport d'Évaluation: Tétrachloroéthylène. Publication en ligne : http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/contaminants/psl1-lsp1/tetrachloroethylene/tetrachloroethylene_4-fra.php.

Santé Canada². *Recommandations sur la Qualité de l'Eau Potable au Canada: document à l'appui – Le Trichloroéthylène*. Publication en ligne : <http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/trichloroethylene/recommendation-fra.php>

Santé Canada³ (2010). *Recommandations pour la Qualité de l'Eau Potable au Canada: Document technique le Tétrachlorure de Carbone*. Publication en ligne : <http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/carbon-carbone/index-fra.php>.

Sbaratto, N.. 2005. *Formulation d'un Donneur d'Électrons pour Accélérer la Biodégradation Naturelle des Solvants Chlorés dans un Aquifère*. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en science de l'environnement. Université du Québec à Montréal.

Shim, H.; Ryoo, D.; Barbieri, P.; Wood, T.K., 2001. *Aerobic Degradation of Mixture of Tetrachloroethyles, Trichloroethylene, Dichloroethylene, and Vinyl Chloride by Toluene-o-xylene Monooxygenase of Pseudomonas Stutzeri OXI*, Applied Microbiology and Biotechnology, Vol., 56: 265-269.

Shin, M.; Choi, H.; Kim, D.; Baek, K., 2008. *Effect of Surfactant on Reductive Dechlorination of Trichloroethylene by Zero-Valent Iron*. Desalination, Vol 223: 299-307.

Slater, G. F.; Lollar, B. S.; Lesage, S.; Brown, S., 2003. *Carbon Isotope Fractionation of PCE and TCE During Dechlorination by Vitamin B12*, Ground Water Monitoring and Remediation, Vol. 23, no 4: 59-67.

Sleep, B.E.; Brown, A.J.; Lollar, B.S., 2005. *Long-term Tetrachloroethene Degradation Sustained by Endogenous Cell Decay*, Journal of Environ. Eng. Sci., Vol. 4: 11-17.

Sung, Y.; Fletcher, K.E.; Ritalahti, K.M.; Apkarian, R.P.; Ramos-Hernandez, N.; Sanford, R.A.; Mesbah, N.M.; Löffler, F.E., 2006. *Geobacter lovleyi* sp. Nov. Strain SZ. A Novel Metal-Reducing and Tetrachloroethene-Dechlorinating Bacterium, Applied and environmental microbiology, Vol. 72, no 4: 2775-2782.

Sung, Y.; Ritalahti, K.M.; Sanford, R.A.; Urbance, J.W.; Flynn, S.J.; Tiedje, J.M.; Löffler, F.E., 2003. *Characterisation of Two Tetrachloroethylene-reducing, Acetate-oxidizing Anaerobic Bacteria and their Description as Desulfuromonas Michiganensis* sp. Nov, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 69: 2964-2974.

Tsai, T.; Kao, C.M.; Hong, A., 2009. *Treatment of Tetrachloroethylene Contaminated Groundwater by Surfactant Enhanced Persulfate/BOF Slag Oxidation - A laboratory Feasibility Study*. Journal of Hazardous Materials, Vol. 171, no. 1-3 : 571-576.

USEPA (US. Environmental Protection Agency). 2012a. *Facts about Trichloroethylene (TCE) at the Chicago Heights Boulevard Site, St. Louis County, Missouri*. Publication en ligne : http://www.epa.gov/region07/factsheets/2012/facts_tce_chicago_hts_stl_county_mo.htm

USEPA (US Environmental Protection Agency). 2012b. *Toxicological Review of Tetrachloroethylene*. Publication en ligne: <http://www.epa.gov/iris/toxreviews/0106tr.pdf>

USEPA (U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response), 2008. *Green Remediation: Incorporating Sustainable Environmental Practices into Remediation of Contaminated Sites*. EPA 542-R-08-002. April 2008.

Vogel, T.M.; Criddle, C.S.; McCarty, P.L., 1987. *Transformation of Halogenated Aliphatic Compounds*, Environ. Sci. Technol., Vol. 21, no. 8: 722-736.

Wang, C.; Zhang, W., 1997. *Nanoscale Metal Particules for Dechlorination of PCE and PCBs*. Environmental Science and Technology, Vol. 31. no.7: 2154-2156.

Westrick, J.J.; Mello, J.W.; Thomas, R.F., 1984. *The Groundwater Survey*, J. Amer. Water Works Assoc., Vol. 76: 52-59.

Wiedemeier, T.H.; Swanson, M.A.; Montoux, D.E.; Gordon, E.K.; Wilson, J.T.; Wilson, B.H.; Kampbell, D.H.; Hansen, J.E.; Haas, P.; Chapelle, F.H., 1998. *Technical Protocol for Evaluating Natural Attenuation of Chlorinated Solvents in Groundwater*. EPA/600/R-98/128, National Risk Management Research Laboratory Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.

Wild, A.; Hermann, R.; Leisinger, T., 1997. *Isolation of an Anaerobic Bacterium which Reductively Dechlorinates Tetrachloroethene and Trichloroethene*, Biodegradation, Vol. 7, no. 6 :507-511.

Yang, Y.; McCarty, P.L., 2002a. *Comparison Between Donor Substrates for Biologically Enhanced Tetrachloroethene DNAPL Dissolution*, Environmental Science and Technology, Vol. 36: 3400-3404.

Yang, Y.; McCarty, P.L., 2002b. *Biologically Enhanced Dissolution of Tetrachloroethene DNAPL*, Environmental Science and Technology, vol 34: 2979-2984.

Yang, Y.; McCarty, P.L., 1998. *Competition for Hydrogen within a Chlorinated Solvent Dehalogenating Anoxic Mixed Culture*, Environ. Sci. Technol., Vol. 32: 3591-3597.

Youlboong, S.; Fletcher, K.E.; Ritalahti, K.M.; Apkarian, R.P.; Ramos-Hernandez, N.; Sanford, R.A.; Mesbah, N. M.; Loeffler, F.E., 2006. *Geobacter Lovleyi* sp. nov. Strain SZ, a Novel Metal-Reducing and Tetrachloroethene-Dechlorinating Bacterium, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 72, no. 4:2775-2782.

Zhang, W.; Elliott, D., 2006. *Applications of Iron Nanoparticles for Groundwater Remediation*, *Remediation*, Vol. 16, no. 2: 7.